



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Personalized medicine and rare diseases:

“Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with Aspirin and angiotensin-converting enzyme inhibitors in a pediatric patient with *XPO5* mutation.”

Medicina personalizada y enfermedades raras:

“Síndrome Nefrótico Corticorresistente controlado satisfactoriamente con Aspirina e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina en paciente pediátrico con mutación en el gen *XPO5*”

Autor: D. Juan Losada Campa

Director: D. Domingo González-Lamuño Leguina

Santander, junio 2020

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría agradecer al tutor de este Trabajo Fin de Grado, el profesor Don Domingo González-Lamuño Leguina, por su trabajo, dedicación y paciencia. Me gustaría agradecerle por su implicación en la realización del trabajo, por brindarme la oportunidad de acercarme al proceso de investigar y sobre todo por fomentar que los estudiantes de 6º de Medicina podamos aspirar a publicar nuestros trabajos en revistas científicas con altos índices de impacto.

En segundo lugar me gustaría agradecer, tanto a la paciente como a su familia, por haber mostrado su apoyo en todo momento y haber accedido no solamente a que utilizase su información para la realización del artículo, sino por haberme concedido entrevistas para conocernos y así poder comprender mejor su situación e inquietudes.

En tercer lugar me gustaría agradecer a mi compañera Verónica Rubio, coautora del artículo científico referido en este trabajo, por haber contribuido y apoyado cada una de las decisiones tomadas en relación al mismo.

Por último a mi familia, por haberme apoyado a lo largo de toda la carrera y siempre.

ÍNDICE

Resumen	pág 5
Introducción: Estructura del Trabajo y Justificación	pág 6
Bloque 1: Bases teóricas	pág 8
1.1.- Introducción a la fisiopatogenia del Síndrome Nefrótico	pág 8
1.2.- Estudios genéticos, mutaciones y mecanismos de acción.	pág 10
1.3.- MicroRNA	pág 16
1.4.-Mecanismo de acción de los IECA	pág 17
1.5.-Tratamiento y mecanismos de acción AAS	pág 20
1.6.- Conclusiones	pág 22
1.7.- Bibliografía del bloque 1	pág 22
Bloque 2: Publicación del caso clínico	pág 28
2.1.- Publicar un trabajo científico	pág 28
2.2.- Validez de los estudios de caso único	pág 29
2.3.-Case Report: <i>Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with aspirin and angiotensin-converting enzyme inhibitors in a pediatric patient with XPO5 mutation</i>	pág 32
2.4.- Bibliografía del bloque 2	pág 39
Discusión general	pág 40
Conclusiones	pág 42
Anexos	
I: Case Report: <i>Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with aspirin and angiotensin-converting enzyme inhibitors in a pediatric patient with XPO5 mutation. Journal of Medical Case Reports (JMCR).</i> Fase de revisores.	
II: Journal of Medical Case Report statistics	

RESUMEN

La medicina personalizada es una nueva manera de tratar y prevenir enfermedades. Este tipo de medicina tiene en cuenta factores que hasta ahora no se consideraban fundamentales para un correcto diagnóstico y tratamiento, como la variabilidad genética, el estilo de vida o el medio ambiente. El presente Trabajo Fin de Grado explora este concepto a través de la descripción del caso de una paciente de 17 años con un síndrome extremadamente raro causado por una mutación genética escasamente descrita. Tras un estudio genético exhaustivo, se objetiva una mutación en el gen *XPO5*; gen fundamental para un correcto desarrollo glomerular, pudiendo explicar así la aparición del síndrome nefrótico resistente a esteroides de la paciente.

Tras un seguimiento clínico de 15 años, y diversos tratamientos diferentes, se ha conseguido la correcta estabilización de la paciente, logrando no solamente disminuir la proteinuria, sino adecuando su tratamiento a otros factores con posibles repercusiones en distintas etapas vitales, como un posible embarazo. La relación entre esta mutación y el síndrome no había sido descrita nunca anteriormente. Este trabajo no es solo la descripción de un caso clínico extremadamente raro, sino una iniciación a la investigación y a la publicación de artículos científicos.

Palabras clave: “medicina”, “personalizada”, “mutación”, “gen” “XPO5”.

ABSTRACT

Personalized medicine is a new approach for disease treatment and prevention. This kind of medicine takes into account various factors that have not been traditionally considered to be fundamental for a successful diagnosis and treatment, such as gene variability, lifestyle and environment. The following Final Project explores this concept by describing the case of a 17-year-old woman, with an extremely rare syndrome caused by an exceptionally described genetic mutation. After an exhaustive genetic study, a mutation in XPO5 gene was discovered, being this gene fundamental for a satisfactory glomerular development, explaining the steroid-resistant nephrotic syndrome that she presents.

After a long 15 year follow up, and a few different treatments, the patient is currently stable, with a significant reduction in proteinuria levels, as well as a satisfactory and safe treatment for all possible stages of development, for example a possible pregnancy. The link between the mutation and the syndrome she presents has never been described before. This Final Project is not only a description of an exceptionally rare clinical case, but an initiation to the processes of investigating and publishing scientific articles.

Key words: “personalized”, “medicine”, “mutation”, “gene”, “XPO5”.

INTRODUCCIÓN

Estructura y justificación del Trabajo

La medicina personalizada o de precisión es definida por *Precision Medicine Initiative* como "un enfoque emergente para el tratamiento y la prevención de enfermedades que tiene en cuenta la variabilidad individual en los genes, el medio ambiente y el estilo de vida de cada persona". Este Trabajo Fin de Grado explora este concepto a través del caso de una paciente de 17 años con un síndrome, extremadamente raro, secundario a una mutación genética escasamente descrita.

Se trata de una joven, con un síndrome nefrótico corticorresistente (SNCR), en la que se identifica una mutación en el gen *XPO5*, el cual es responsable de la regulación de otros genes implicados en el desarrollo glomerular.

Este gen *XPO5* codifica una proteína requerida para el transporte de pequeños ARN y proteínas de unión a ARN bicatenarias, desde el núcleo al citoplasma. Las mutaciones de *XPO5* (exportina 5) han sido asociadas a varias enfermedades, que incluyen tumores cerebrales entre otras muchas (1), y de forma indirecta con el síndrome nefrótico a través de su papel regulador de las porinas (2).

Nuestro trabajo es el primero en establecer una correlación clínica potencial entre una mutación en *XPO5* y el SNCR, proponiendo además una opción terapéutica alternativa a los corticoides, basada en IECAS y AINES, que ha demostrado controlar la enfermedad de esta paciente a lo largo de más de una década. Se discute también en este trabajo la relevancia de este gen en la regulación de las porinas y se postula un posible mecanismo asociado a cambios en los microRNA, como mecanismos relacionados con el cuadro clínico y con la respuesta al tratamiento.

La mera descripción de la posible relación entre la mutación encontrada en este gen y el síndrome nefrótico corticorresistente que presenta la paciente, ayuda a comprender la importancia de personalizar, tanto la forma de enfocar los casos de distintos pacientes, como de comprender que no todos ellos son sensibles a los mismos tratamientos. La medicina está evolucionando y la medicina personalizada cada vez tiene una mayor repercusión. Se tiende a avanzar hacia una medicina individualizada y única para cada paciente, donde cada caso debe ser estudiado de forma independiente para poder ofrecer la mayor atención posible a los enfermos.

En cuanto a la estructura de este trabajo cabe destacar que se divide en dos bloques fundamentales. Un primer bloque en el que se recogen los conceptos teóricos en los que se basa el caso de esta paciente y que permitirán posteriormente una correcta discusión científica del mismo. Y un segundo bloque en el que se reflexiona sobre la importancia de la publicación científica, la validez de los casos únicos y se describe propiamente el caso clínico a estudio. Esta descripción y análisis del caso se hace por medio de la redacción de un artículo científico, que ha sido enviado para su publicación como trabajo científico original a una revista indexada, *Journal of Medical Case Reports*. Este artículo se encuentra en la actualidad en la fase de revisores. Cada

uno de los bloques está estructurado y tiene los correspondientes apartados de conclusiones y bibliografía, entendiendo como autor del mismo, que debido a la independencia de los dos bloques es la mejor estructura posible para la comprensión del mismo.

Finalizamos el trabajo con una apartado de conclusiones globales, de acuerdo al título del mismo y a la experiencia que supone publicar en medicina. Los apartados generales del trabajo (introducción y conclusiones) y todo el primer bloque están escritos en español. La parte del segundo bloque que corresponde a la descripción del caso clínico se presenta escrito en inglés ya que es el idioma en el que se ha reaalizado la publicación científica, el resto del segundo bloque ha sido desarrollado en español.

Bloque 1: Conceptos fundamentales del Trabajo Fin de Grado

Este primer bloque consiste en una tesina que reintroduce conceptos elementales del síndrome nefrótico en la infancia y la importancia de la medicina personalizada en el diagnóstico y tratamiento de pacientes con enfermedades raras.

Los principales conceptos que serán desarrollados y facilitarán la comprensión de la segunda parte del trabajo son:

- El síndrome Nefrótico, patogenia y tipos.
- La secuenciación genética, tipos y principales ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos.
- Los microRNAs y su relación con la expresión genética.
- Los Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECAs), función, mecanismo de acción y relación con el coronavirus.
- Los Antiinflamatorios No Esteroideos (AINES), su mecanismo de acción y relevancia en el tratamiento de esta paciente.

Bloque 2: Case report. Scientific article.

En este segundo bloque del trabajo se discute la importancia de la publicación científica y la validez del estudio de caso único. Posteriormente se desarrolla un artículo científico, con todos los apartados propios del mismo, en inglés, que ha sido enviado a revistas para su publicación. Este artículo se basa principalmente en la descripción del caso clínico de una paciente de 17 años, con una enfermedad rara, en la que se hace una aproximación clínica personalizada. El seguimiento clínico de una única paciente a los largo de 15 años, permite disponer de una serie de datos clínicos relevantes relativos a la respuesta terapéutica.

BLOQUE 1: BASES TEÓRICAS

1.1.- Introducción a la fisiopatogenia del síndrome nefrótico

El síndrome nefrótico se define como “ un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por proteinuria abundante con hipoalbuminemia, edema y dislipemia”. (3)

Previamente a la explicación del síndrome nefrótico y específicamente, del síndrome nefrótico corticorresistente, hay varios conceptos que deben ser desarrollados para una correcta comprensión del mismo.

El primero de ellos es el proceso de formación de la orina. La orina es producida a partir del ultrafiltrado plasmático en el glomérulo. Es normal o fisiológico que haya presente una pequeña cantidad de proteínas en orina, bien porque hayan sido producidas en el tejido renal o bien porque provengan directamente del plasma. La composición de las proteínas en orina viene regulada por tres procesos, la filtración glomerular, la reabsorción en los túbulos y la secreción de proteínas a la orina a través del tracto genitourinario. Será la disfunción de estos mecanismos la que suponga un aumento en la cantidad de proteínas presentes en la orina. (4)

Especialmente relevante para este trabajo es la disfunción o alteración de la filtración glomerular, y en relación a la misma, la estructura del capilar glomerular.

La pared capilar glomerular es una barrera cuya función principal es impedir el paso de la mayoría de las proteínas plasmáticas, especialmente las de mayor tamaño molecular, y permitir el paso de solutos, iones y agua. Para que una sustancia pase al espacio urinario desde la sangre es necesario que atraviese la barrera de filtración glomerular (BFG). Esta barrera está formada por:

1. Endotelio fenestrado
2. Membrana basal glomerular (MBG)
3. Hendidura del poro y los podocitos

Los podocitos son un tipo celular altamente diferenciado. Están presentes en los glomérulos renales junto a las células endoteliales, las células mesangiales y las células parietales epiteliales.

Tienen características especiales como poseer procesos o pedicelos, que son los encargados de la formación de poros de filtración, mantener la estructura de la MBG o ser células indivisibles, por lo que, si son lesionadas, se pierden de forma progresiva e irreversible. Al contribuir a la formación de la membrana basal glomerular, hay varios eventos que pueden afectar directa o indirectamente a los podocitos y, en consecuencia, producir una disfunción BFG, ya sea por trastornos inmunes o defectos estructurales intrínsecos.

El Síndrome Nefrótico Sensible a Corticoides (SNSC) y algunos SNRC, principalmente aquellos que responden a la inmunosupresión, son secundarios a defectos inmunes (5) (efecto directo de depósito de anticuerpos, efecto directo del complemento, mediada por macrófagos, etc.). La mayoría suelen cursar con cambios mínimos, la forma de presentación y glomerulopatía más frecuente.

Por lo contrario, se ha sugerido que los síndromes nefróticos que son resistentes a la inmunosupresión (SNRC) se relacionan principalmente con defectos primarios en BFG o podocitos (6,7), como es el caso de la paciente que ha sido seguida por el Departamento de Pediatría del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla durante 15 años. A diferencia de las formas corticosensibles de síndrome nefrótico, las variantes corticorresistentes suelen cursar con glomeruloesclerosis segmentaria focal (FSGS) o esclerosis mesangial difusa (DMS).

Una gran parte de los síndromes nefróticos corticorresistentes son de carácter familiar o genético como es el caso de esta paciente. En las últimas décadas ha habido un gran aumento de trabajos de investigación en relación a esta patología. Se han identificado gran cantidad de genes relacionados tanto con la formación del podocito, como con las porinas, el citoesqueleto o las mitocondrias que pueden estar implicados en la aparición del síndrome nefrótico. (3)

La proteinuria es la manifestación principal de la afectación glomerular y es un factor patogénico de disfunción renal. Un incremento de la pérdida de proteínas urinarias puede ser resultado principalmente de dos alteraciones de la membrana:

- Una pérdida de la carga eléctrica negativa de la pared del capilar glomerular
- Un aumento del tamaño de los poros

Normalmente las proteínas que pasan la membrana están restringidas por el tamaño o la carga eléctrica. En condiciones normales, las proteínas de tamaño similar a IgG, con cargas neutras, no serán filtradas, debido a que son más grandes que los poros. Otras como la albumina, a pesar de ser más pequeñas, no podrán ser filtradas debido a que son repelidas por la carga eléctrica negativa de la pared. (4) Es cuando se produce una disfunción de esta membrana cuando este tipo de moléculas, que previamente no lograban ser filtradas, comenzarán a pasar a la orina de forma patológica.

El síndrome nefrótico tiene graves consecuencias sobre los pacientes siendo común, en ausencia de tratamiento, el desarrollo de enfermedad renal terminal. El síndrome nefrótico aparece en cualquier edad, pero es especialmente predominante en niños, concretamente en varones (siendo la prevalencia dos veces mayor en este grupo, a pesar de que en este caso la paciente sea una mujer). Es importante comprender la fisiología del riñón, la importancia de la integridad de las porinas y los podocitos, y la etiopatogenia de la proteinuria para comprender el caso de la paciente estudiada y la justificación de su tratamiento.

1.2.-. Estudios genéticos, mutaciones y mecanismos de acción.

Los estudios genéticos son hoy en día técnicas fundamentales para lograr el diagnóstico de paciente con enfermedades raras. Debido a que la paciente presentaba un síndrome nefrótico resistente al tratamiento esteroideo, se decidió proceder a la realización de un estudio genético, con el fin de buscar alguna mutación que explicase la aparición de este síndrome, y que guiase hacia algún posible tratamiento para el control de la proteinuria.

La tecnología de secuenciación masiva (NGS, *Next Generation Sequencing*) ha transformado el estudio de la genética humana. El análisis genético mediante NGS aumenta el conocimiento acerca de las enfermedades de herencia mendeliana y es, por tanto, una herramienta poderosa para el diagnóstico genético y el estudio etiológico de múltiples patologías. La secuenciación masiva hace posible el análisis genético de todos los genes descritos en pocas semanas, disminuyendo el tiempo de estudio que previamente era de meses, y mejorando la efectividad y eficiencia en el diagnóstico, al identificar un alto número de variantes de ADN que pueden actuar como mutaciones patogénicas responsables de la enfermedad o como modificadores de la expresividad fenotípica. (8, 9)

A pesar de esto, la secuenciación masiva no ha alcanzado su máximo potencial en la aplicación clínica debido a cuestiones técnicas y regulatorias, como el almacenamiento de los datos genómicos del paciente. En la actualidad la capacidad de secuenciar es mayor que la capacidad para interpretar las variantes que se detectan, siendo los efectos de las variantes de significado incierto, VUS y de las variantes en regiones intrónicas un gran desafío para su interpretación. Por otro lado, confiar exclusivamente en las herramientas de interpretación 'in silico' es peligroso, y no son el reemplazo del análisis de los expertos en la clínica y genética de una enfermedad o de los estudios funcionales.

Pero parece esperanzador pensar que la integración de estos hallazgos genéticos en el manejo clínico de los pacientes permitirá, en un futuro, establecer posibles tratamientos personalizados, sin olvidar el asesoramiento genético familiar sobre las bases moleculares concretas.

Tipos de secuenciación genética (NGS)

NGS permite la secuenciación de un panel de genes diana (TS, *Targeted Sequencing*), el genoma entero (WGS, *Whole-Genome Sequencing*) o únicamente la región codificante del mismo (WES, *Whole-Exome Sequencing*) en cuestión de días, dependiendo de la tecnología y protocolo utilizado. Esto último también determinará la sensibilidad y precisión en la detección de variantes. (10,11)

De acuerdo con la literatura, los mejores resultados relativos a la secuenciación del exoma se obtienen en pacientes que presentan alguna de las siguientes condiciones: pertenecen a familias consanguíneas; presentan trastornos en el desarrollo intelectual;

tienen algún progenitor con un fenotipo similar o la herencia muestra un patrón dominante o ligado al cromosoma X. (12)

Es importante conocer las distintas herramientas y análisis de las que se dispone para aplicarlo al diagnóstico clínico:

1. Panel de genes (TS)

Esta técnica permite capturar zonas concretas del genoma (en este caso, genes de interés) que son secuenciados simultáneamente de una manera económica.

Ventajas

- Bajo coste de la técnica. Especialmente interesantes por su rapidez y la alta profundidad de lectura del objetivo. (13)
- Por otra parte, la interpretación de las alteraciones que se descubren es más sencilla y se minimizan los hallazgos accidentales.(14)
- La aplicación de paneles de secuenciación masiva al diagnóstico genético requiere del estudio de los genes asociados a la patología, del diseño bioinformático del panel y de su validación que permita evaluar los parámetros de calidad del panel (como la reproducibilidad, cobertura media, sensibilidad, especificidad, detección de deleciones e indels (“inserción o deleción”)), previo a su aplicación en el diagnóstico de enfermedades genéticas, pero es realmente útil para el diagnóstico de enfermedades raras. (15)

Desventajas

- Dificultad para detectar determinadas alteraciones, especialmente las variaciones en el número de copias (CNVs), en regiones con número insuficiente de lecturas o con menor cobertura. Esta cobertura menor al 100% ocurre sobre todo en los primeros exones de genes con regiones ricas en GCs. (16)
- Por otra parte, siguiendo las recomendaciones del *American College of Medical Genetics and Genomics*, solo aquellos genes que han sido científicamente asociados con una enfermedad deben ser incluidos en el panel de genes. Por ello, el resultado para un paciente concreto puede no ser concluyente, y requerir de otro panel de genes, otro método adicional como los arrays de hibridación genómica comparada (aCGH) para la detección de CNVs o el análisis genético mediante WES o WGS. (17)
- Dada la rapidez con la que se identifican nuevos genes asociados a una enfermedad, es necesaria la actualización de los paneles, especialmente en aquellas enfermedades en las que las bases moleculares no están del todo definidas. Incluir nuevos genes en el “pool” que va a amplificarse mediante NGS evitaría tener que secuenciar todos los genes conocidos mediante WES o WGS. (18)

2. Secuenciación del exoma completo (WES)

A pesar de que el exoma supone solo alrededor del 2% del genoma humano, el 85% de las variantes descritas causantes de enfermedad se encuentran en él. (19)

El objetivo del WES es la secuenciación de los exones codificantes de todos los genes conocidos.

Existen también variantes de WES comercialmente denominadas “exoma clínico” (p.e., *Agilent SureSelect Focused Exome*, *Illumina TruSight One*) que incluyen unos 5.000-6.000 genes asociados a enfermedad. Es decir, únicamente cubren el 20% de todo el exoma y requieren, al igual que los paneles de genes, análisis adicionales si no se encuentra la alteración causante de la clínica. (20)

Ventajas

- WES no solo incluye los exones de aquellos genes asociados al fenotipo en estudio, sino que también permite la identificación de nuevos genes en enfermedades con base molecular desconocida.
- El análisis de datos obtenido por WES puede limitarse a los genes de interés, y posteriormente ampliarse si es necesario, lo que reduce el hallazgo de alteraciones accidentales o secundarias. No es de extrañar que se esté implementando el uso de WES como el primer análisis genético a realizar, ya que hace posible el análisis de tríos (secuenciación del caso índice y sus progenitores) de una forma rentable, facilitando la interpretación de los datos y aumentando el rendimiento diagnóstico considerablemente (20-30%). (21,22)

Desventajas

- Puede no cubrir partes del exoma que han sido pobremente enriquecidas, aunque esta cobertura podría mejorarse combinando kits de enriquecimiento. (23)
- Las herramientas que han sido desarrolladas para la detección de CNVs mediante WES siguen sin ser tan precisas como las utilizadas para WGS. (24)

3. Secuenciación del genoma completo (WGS)

Ventajas

- La secuenciación del genoma completo tiene la ventaja de una cobertura continua y la identificación de variantes a lo largo de todo el genoma, permitiendo detectar variantes no exónicas, mejorar la detección de las CNVs y un mayor rendimiento sobre WES. (25,26,27)
- La interpretación de resultados, como en WES, podría dirigirse inicialmente a las regiones de interés, ya que, a día de hoy, la interpretación de variantes en regiones intrónicas, intergénicas o reguladoras es difícil a nivel de ADN. (28)
Tales variantes tendrán gran importancia en un futuro cercano, incrementando el valor de los datos obtenidos mediante WGS.(29)

Desventajas

- La mayor limitación viene determinada por la longitud de lectura de la secuencia, que al ser de alrededor de 200pb, puede llevar a que la alineación ocurra en una región del genoma que no corresponda.

Técnica	TS	WES	WGS
Ventajas	<ul style="list-style-type: none">-Bajo coste-Rapidez-Alta profundidad de lectura-Interpretación de las alteraciones sencilla	<ul style="list-style-type: none">-No solo incluye los exones de aquellos genes asociados al fenotipo en estudio, sino que también permite la identificación de nuevos genes.-El análisis de datos obtenido por WES puede limitarse a los genes de interés, y posteriormente ampliarse si es necesario.	<ul style="list-style-type: none">-Cobertura continua y la identificación de variantes a lo largo de todo el genoma.-La interpretación de resultados, podría dirigirse inicialmente a las regiones de interés.
Desventajas	<ul style="list-style-type: none">-Dificultad para detectar determinadas alteraciones.-Solo los genes que han sido asociados con una enfermedad deben ser incluidos en el panel de genes.-Necesaria la actualización de los paneles	<ul style="list-style-type: none">-Puede no cubrir partes del exoma que han sido pobremente enriquecidas.-Las herramientas que han sido desarrolladas para la detección de CNVs mediante WES siguen sin ser tan precisas como las utilizadas para WGS.	<ul style="list-style-type: none">-Longitud de lectura de la secuencia, que puede llevar a que la alineación ocurra en una región del genoma que no corresponda.

Tras haber comprendido las ventajas y desventajas de cada tipo de secuenciación genética, ¿cuál se debería elegir entonces?

Cuando se comparan todas las opciones, parece claro que la secuenciación del genoma completo (WGS) es teóricamente el mejor enfoque, ya que produce un mayor conjunto de datos sobre el genoma de un individuo. (30)

Sin embargo, obtener una cobertura suficiente incrementa los costes, y el tiempo de análisis limita su implementación en el diagnóstico genético de rutina y es una técnica considerablemente más cara que otras como el WES. (31)

El análisis de paneles genéticos representa una alternativa menos costosa, pero que solo tendrá éxito, si el gen que causa la enfermedad, está incluido en el panel. La ventaja es, además del corto tiempo de respuesta, que permite una mayor cobertura a

un coste menor que los enfoques de todo el exoma o genoma y que la focalización restringida reduce la posibilidad de hallazgos inespecíficos o accidentales. (32) Esto es lo que se realizó en el caso de la paciente a estudio, donde además de estudiar los principales genes relacionados con Síndrome Nefrótico Cortico Resistente, se incorporaron otros genes como el *XPO5*. La mutación de este gen había sido pobremente descrita y ligada a SNCR anteriormente, pero se decidió incluirlo en el panel y se descubrió que era este gen el que tenía una mutación en el caso de esta paciente, explicando así la aparición del síndrome nefrótico.

En caso de utilizar las técnicas WES y WGS se podría dirigir el análisis a unos genes seleccionados y conocidos y, si no se encuentra nada patogénico, podrían añadirse genes novedosos y relevantes haciendo una pequeña modificación en el análisis bioinformático, ampliando así la búsqueda y así solucionar algunas de las desventajas que presentan estas técnicas. En WGS, la cobertura de lectura de todo el genoma puede permitir la detección de variaciones en el número de copias, repeticiones de tripletes y pequeñas deleciones, que pueden contribuir sustancialmente a la carga de una enfermedad en las que estas alteraciones genéticas son importantes.

Luego todas las técnicas pueden ser útiles y provechosas, pero en este caso se consideró que el método más adecuado era el panel de genes, tanto por su coste como por su rendimiento.

Cabe destacar que en los últimos años, los costes han disminuido significativamente, permitiendo la aplicación de la secuenciación masiva al diagnóstico clínico. Hace 10 años la secuenciación de un millón de pares de bases costaba alrededor de 1000\$, mientras que ahora no alcanza 0,10\$. En la actualidad, varias casas comerciales permiten la secuenciación del genoma completo por menos de 1000\$, un logro que permitirá su aplicación clínica a gran escala, fomentando la comprensión de las enfermedades genéticas y, en última instancia, contribuyendo a la medicina personalizada de manera importante. (33)

A la hora de calcular los costes hay que tener en cuenta, además del proceso de secuenciación, el equipamiento y su mantenimiento, el personal técnico para la preparación de muestras, interpretación de datos y realización de informes y, finalmente, el almacenamiento de los datos generados.

La secuenciación de los paneles de genes y el exoma completo son las alternativas menos costosas en comparación con el genoma completo, aunque esto no implica que deban ser los elegidos para la práctica clínica, ya que el rendimiento diagnóstico también debe ser tenido en cuenta como ya ha sido explicado anteriormente. Este será considerablemente más alto en WGS que en WES y panel de genes, dependiendo de la población de pacientes. Además, si comparamos WGS y WES las diferencias en el rendimiento serán mínimas, teniendo en cuenta que en el estudio del exoma solo se secuencian las regiones que codifican proteínas, en el que se cree que ocurren el 85% de las mutaciones. (34)

Otro de los parámetros a tener en cuenta a la hora de elegir la estrategia a seguir son la sensibilidad (tasa de falsos negativos) y la especificidad (tasa de falsos positivos). En principio, la tasa de falsos positivos no es un problema en la secuenciación masiva, porque los hallazgos son confirmados, de momento, mediante secuenciación Sanger. Es, por tanto, el porcentaje de falsos negativos el principal parámetro a tener en cuenta.

Cuando una enfermedad es causada, principalmente, por pocos genes, pero altamente penetrantes, como sucede, por ejemplo, en el cáncer de mama hereditario, encontrar un falso negativo sería inaceptable, mientras que en enfermedades más heterogéneas se acepta que haya falsos negativos, porque se está realizando un diagnóstico genético que de otra forma, como por secuenciación Sanger, sería impensable. (35)

Por tanto, como conclusión, para cada población de pacientes, la decisión sobre qué estrategia de secuenciación utilizar está basada en los costes, profundidad de lectura y calidad de la secuencia.

Interpretación de los resultados

La secuenciación masiva da como resultado alrededor de 10.000 y 1.000.000 de variantes en WES y WGS, respectivamente. Un filtrado adecuado reduce estos números mediante la distinción de las alteraciones en patogénicas o benignas. (36)

La asociación entre una variante y la enfermedad se puede encontrar en la literatura (ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) y en bases de datos como HGMD (www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php) y ClinVar (www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/).

Además, los SNV (*Single Nucleotide Variant*) e indels se priorizan en función de la frecuencia en la población (ExAc, exac.broadinstitute.org), conservación filogenética (SiPhy, portals.broadinstitute.org/genome_bio/siphy/index.html) y el potencial efecto en la función o estructura de la proteína (PROVEAN, provean.jcvi.org/; Polyphen-2, genetics.bwh.harvard.edu/pph2/; MutPred, mutpred.mutdb.org/).

Para la priorización de CNVs, existen menos herramientas y se utiliza sobre todo el tamaño y frecuencia en la población (DGV, dgv.tcag.ca/). Por otro lado, aunque se sabe que las variantes en regiones de corte y empalme (*splice sites*) son clínicamente relevantes, su priorización es más complicada y sería necesario el desarrollo de mejores herramientas 'in silico'. (37)

La interpretación más completa de las alteraciones encontradas se llevará a cabo no solo consultando las bases de datos, sino realizando los análisis funcionales apropiados que permitan evaluar el efecto de las variantes sobre, por ejemplo, la expresión génica.

Los análisis de segregación o de tríos proporcionarán evidencia adicional de la asociación de las variantes con la enfermedad, y si son 'de novo' o heredadas.

Sin embargo, a pesar de la interpretación, las variantes de significado incierto (VUS) permanecerán como una de las entidades más frecuentes. (38)

En el caso de la paciente que presentamos, se detectó una mutación en heterocigosidad en uno de los genes candidatos (*XPO5*, MIM 607845). La mutación consiste en una transición de una T a una C (c.2976T> C) que, a nivel de proteína, predice un cambio sinónimo en la posición 992 (P.D992D). Su frecuencia en las bases de datos de población es muy baja (MAF: 0,0005; 1000 genomas) y actualmente no hay evidencia publicada de su implicación clínica, no hay otros casos clínicos publicados en los que se haga referencia a pacientes con esta mutación y el consecuente síndrome nefrótico.

El análisis “in silico” de este cambio con el programa de predicción *Human Splicing Finder*, no predice un impacto en los sitios de empalme canónico, ni indica que este cambio de lugar pueda crear un nuevo sitio de empalme críptico. Desde el punto de vista de la posible patogenicidad, se considera dentro de la categoría de variante de significado en incierto (VUS). Sin embargo, se ha demostrado que cambios en *XPO5*, tanto derivados de una mutación genética, como de un cambio epigenético, del nivel de expresión o de modificación postraduccional, podría afectar la expresión de microARN (miARN) asociados (ver más adelante) (39). Por lo tanto teniendo en cuenta la función del gen mutado, su relación con las porinas y las podocitos, y el síndrome nefrótico que presenta la paciente, se ve una clara relación entre las manifestaciones clínicas de esta paciente y la mutación de este gen.

Debido a la presencia de la mutación y a la posible repercusión clínica que tiene o ha tenido en la paciente a estudio, se realizó también un estudio genético a los progenitores. Se detectó la presencia de la misma mutación en la madre de la paciente, pero en este caso sin repercusión clínica, con ausencia de proteinuria significativa. Esta circunstancia, variante VUS heredada de su madre, hace pensar que la mutación genética no es el único requisito necesario para la aparición de síndrome nefrótico, sino que hay otros factores que juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Uno de los factores más importantes a tener en cuenta son los microARN.

1.3.- MicroARN

Los microARN (miARN) son un tipo de ARN endógeno, pequeño y no codificante, encargados de regular la expresión de genes codificantes de proteínas mediante la unión imperfecta a su RNA mensajero (RNAm). Aunque los miARN han sido vinculados a la regulación de diversos procesos biológicos (40), ha sido recientemente cuando se ha comenzado a describir y estudiar la función específica de los miARN en el riñón.

Todavía no se ha logrado identificar por completo el mecanismo de acción de estos miRNAs o qué determina la interacción entre ciertos miRNAs y los RNAsm, pero lo que sí se ha demostrado científicamente es que el miARN identifica el RNAm diana a través de una secuencia de ocho a nueve nucleótidos, con ayuda de otras características

contextuales (41), y esta interacción tiene una repercusión en la expresión de ciertos genes.

Como se ha sido explicado en el apartado anterior del trabajo sobre la etiopatogenia del síndrome nefrótico, los podocitos son células epiteliales altamente especializadas, fundamentales para la preservación de la función de la barrera de filtración glomerular.

Se ha descrito, en estudios recientemente publicados (42), como los miRNAs tienen un papel importante en la transcripción de ciertos genes relacionados con los podocitos. La pérdida o lesión de podocitos son clave en la aparición de proteinuria en pacientes renales y los miRNAs parecen jugar un importante papel en todo este proceso. (43)

A través de la experimentación con ratones, se ha demostrado que si los ratones carecen de miRNAs funcionales, en el podocito disminuye la expresión de las proteínas del diafragma, de nefrina y de podocina (44,45). Esto explicaría la disfunción de los podocitos y la consecuente disfunción de la membrana de filtración glomerular y aparición de proteinuria.

La función de miARN es prescindible para el desarrollo inicial de los glomérulos, pero se ha demostrado que es fundamental para mantener la barrera de filtración glomerular íntegra.

Por tanto, los miARN son pequeños ARN de unos 25 nucleótidos de longitud, no codificantes, que juegan un papel importante en la regulación de la expresión génica. La función principal de la proteína codificada por el gen mutado en el caso de la paciente que presentamos, el gen *XPO5*, es el transporte de precursores de miARN (pre-miARN) desde el núcleo al citoplasma (45). Esto apoya la hipótesis de que el síndrome nefrótico corticorresistente de esta paciente, podría estar relacionado, no solamente con la mutación del gen, sino con la expresión de ciertos miRNAs, y su relación con una posible disfunción podocitaria.

1.4.- Mecanismos de acción de los Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)

Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) son fármacos que actúan sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona. Su mecanismo principal de acción consiste en inhibir la enzima convertidora de angiotensina (ECA) , bloqueando la transformación de angiotensina-I a angiotensina-II, un péptido con importante actividad vasoconstrictora. Su segundo mecanismo de acción consiste en la inhibición de la degradación de bradicina, una sustancia vasodilatadora destruida por la ECA. (46)

A través de estos dos mecanismos, los IECA consiguen producir vasodilatación, siendo un fármaco muy útil en el tratamiento de patologías como la hipertensión. Como disminuyen los niveles de angiotensina II, se produce una dilatación de la arteriola eferente, por lo que consecuentemente disminuye la perfusión glomerular y la tasa de filtración.

La acción hipotensiva que tienen estos fármacos ha sido ampliamente demostrada, pero también ha sido elemento a estudio durante las últimas décadas. Para el caso de esta paciente, es especialmente relevante, la función que tienen estos fármacos en la reducción de los niveles de proteinuria.

Estos medicamentos reducen la ultrafiltración de proteínas glomerulares, con la consiguiente reducción de la presión glomerular intracapilar y mejorando la selectividad del tamaño de la barrera glomerular. Se consigue con todo ello limitar las consecuencias de la sobreabsorción de proteínas por los túbulos renales, que a largo plazo es un proceso tóxico para los riñones. (47)

Los pacientes con síndrome nefrótico persistente tienen un mayor riesgo de progresión a insuficiencia renal terminal y eventos cardiovasculares cuanto mayor es el tiempo de progresión de la enfermedad. (48) Por lo que, el descubrimiento de los inhibidores de la ECA, supuso una revolución en la progresión de la enfermedad y esperanza de vida de estos pacientes. Ha sido ampliamente demostrada la tendencia constante a menor proteinuria durante la terapia de inhibición de la ECA a largo plazo.

Específicamente, debido a que el tratamiento de la paciente a estudio está basado en una combinación de Aspirina con Enalapril, la información más relevante para este trabajo es la relacionada con este último fármaco.

La terapia con Enalapril disminuye significativamente, tanto la presión arterial, como la disfunción selectiva del tamaño de la barrera glomerular, sin cambios significativos en la hemodinámica renal en pacientes con síndrome nefrótico. El efecto sobre las propiedades de la barrera glomerular se asocia con una reducción significativa y duradera en la excreción de proteínas urinarias, que en el caso de nuestra paciente, persistió durante entre 1 y 2 meses después de la retirada de Enalapril. Cabe destacar que, aunque se aprecia reducción de la proteinuria en un gran elevado porcentaje de pacientes con este tratamiento, esta reducción es completamente heterogénea, respondiendo de forma diferente cada uno de los pacientes en cuanto al nivel de reducción de proteinuria. (49)

En gran número de estudios y series realizadas en la última década (55), se demuestra que la reducción duradera en la proteinuria, no se debe a una remisión espontánea de la enfermedad, ya que no se observa esta misma disminución de la proteinuria en grupos de control, en los que no se detecta una reducción en los niveles de proteínas en orina salvo en los casos de remisión espontánea del brote de síndrome nefrótico.

Diversos estudios respaldan la posibilidad de que los inhibidores de la ECA ejerzan un efecto estructural y duradero sobre la barrera glomerular que puede iniciarse, pero no se explica completamente, por los cambios a corto plazo en la hemodinámica sistémica y, posiblemente, globular. (50)

Algunas de las consideraciones a tener en cuenta en la utilización de estos fármacos son los efectos secundarios y contraindicaciones que presentan. Los principales efectos secundarios (51) descritos en relación a estos fármacos son:

- Tos
- Insuficiencia renal aguda
- Hipotensión transitoria tras la primera dosis
- Angioedema
- Hipercalemia
- Exantema cutáneo

Está además contraindicado su uso en el embarazo a partir del segundo y tercer trimestre. Se ha demostrado que el consumo de estos fármacos durante el embarazo aumenta el riesgo de partos prematuros y recién nacidos de bajo peso. Hay también descritos casos de disfunción renal en el feto, crecimiento intrauterino lento, oligohidramnios agudo o fallos de osificación. (52)

En el caso de la paciente a estudio, debido a su sexo y al deseo que la paciente podría referir en un futuro sobre una posible descendencia, es importante explorar y considerar otras opciones terapéuticas para controlar sus niveles de proteinuria en el caso de una posible gestación.

Relación de los IECAS y la infección por Covid 19

Los coronavirus patógenos humanos (SARS-CoV y SARS-CoV-2) se unen a sus células diana a través de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), que es expresada por gran cantidad de células epiteliales del organismo humano (pulmón, intestino, riñón, y vasos sanguíneos)(53). La expresión de esta enzima aumenta sustancialmente en aquellos pacientes que son tratados con inhibidores de la ECA y bloqueadores de los receptores de angiotensina II.

Los principales datos que relacionan el consumo de IECAs y la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) fueron recogidos en China entre los años 2019-2020. Se han realizado varios estudios relacionados con este tema, pero han sido tres, los que más impacto han tenido y en los que más se ha estudiado la prevalencia de comorbilidades o la prevalencia de otras patologías en aproximadamente un total de 1200 pacientes.

En el estudio con menor tamaño muestral (52 pacientes) se demostró que las principales comorbilidades fueron enfermedades cerebrovasculares (en un 22% de los pacientes) y diabetes (en la misma proporción). (54)

En otro de los estudios, en el que se incluyeron 1099 pacientes (55), 173 de los cuales tenían sintomatología grave, las principales comorbilidades fueron hipertensión (7%), diabetes mellitus (2%), enfermedades coronarias (8%) y enfermedad cerebrovascular (3%).

A partir de la obtención de estos datos, se observó que las principales comorbilidades que presentaban estos pacientes, tenían en común que a menudo se tratan con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) (56). Tanto la diabetes como la hipertensión pueden ser tratados con IECA, aumentando, por lo tanto, la expresión de la enzima ECA. ECA también puede incrementarse con tiazolidinedionas e ibuprofeno.

En consecuencia y según lo explicado anteriormente, el aumento de la expresión de ECA facilitaría la infección por SARS-CoV-2.

Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que el tratamiento de la diabetes y la hipertensión con fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina aumenta el riesgo de desarrollar COVID-19 grave y mortal.

En el caso de la paciente a estudio, su tratamiento principal consiste en la combinación de Enalapril (IECA) asociado a aspirina, por lo que podría suponer un problema para la paciente o una mayor probabilidad de infección, continuar con este tratamiento.

Se hace referencia también a que, según una búsqueda que se realizó en PubMed el 28 de febrero de 2020, no se encuentra ninguna evidencia que sugiera que los bloqueadores de los canales de calcio antihipertensivos aumenten la expresión o actividad de ACE2. (57). Por lo tanto, éstos podrían ser un tratamiento alternativo. En este caso, se valoró que el riesgo de la paciente no era lo suficientemente alto como para cambiar el tratamiento con IECA, por lo que continúa en la actualidad con el mismo tratamiento.

Debido a que se demostró, como se explicará en el artículo científico posteriormente, que la paciente mantiene un adecuado control de los niveles de proteinuria durante cortos periodos de tiempo recibiendo únicamente tratamiento con Aspirina, la opción de utilizar bloqueadores de los canales de calcio, en el supuesto de no poder utilizar IECA, no se consideró necesaria en ningún momento.

1.5.- Tratamiento y Mecanismos de acción de AAS

Como ya se ha hecho referencia anteriormente en el trabajo, la paciente a estudio ha sido tratada a lo largo de 15 años mediante una combinación de IECA y AINEs, específicamente con Enalapril y Aspirina. Tras haber explicado el mecanismo de acción de los IECA y la repercusión que tienen los mismos sobre la proteinuria de la paciente, se procede, a continuación, a desarrollar de igual forma, tanto el mecanismo de acción de los AINEs como su repercusión en la función renal de la paciente.

Los AINE son un tipo de fármacos que se caracterizan por inhibir la acción de la enzima cicloxigenasa (COX). La COX es la enzima responsable del paso inicial del metabolismo del ácido araquidónico a eicosanoides (específicamente relevante para este caso, a prostaglandinas (PGs)).

Existen dos isoformas de esta enzima:

-COX-1: se expresa en la mayoría de los tejidos. Es el responsable de la síntesis de PG con función de protección de la mucosa gástrica, regulación de la función renal y agregación plaquetaria. A nivel renal, COX-1 se expresa en células mesangiales, músculo liso arteriolar y células endoteliales, células epiteliales parietales de la cápsula de Bowman y conductos colectores corticales y medulares. (58)

-COX-2: se expresa en menos tejidos (sistema nervioso central, riñón y aparato reproductor) y es la principal isoenzima asociada a la inflamación. Se ha demostrado que COX-2 está presente en los podocitos y las células arteriolares del músculo liso.

Las PG son moléculas de 20 átomos de carbono capaces de regular el tono vascular y son mediadores de la inflamación, además de estar implicadas en otros procesos como la homeostasis de sal y agua en el riñón o la modulación de la acción hormonal.

Hay distintas prostaglandinas primarias como la PGE₂, PGI₂, PGD₂, PGF_{1α} y el tromboxano A₂, que ven reducida su síntesis debido a la inhibición de la enzima COX. (59)

Los PG más importantes en el riñón son PGE₂ y PGI₂. Son sustancias vasodilatadoras, por lo que aumentan el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular (TFG). Las PG son encargados a nivel renal de la modulación de la hemodinámica microvascular:

- Por un lado los receptores EP₂ de prostaglandinas y la acumulación de AMPc producido tras la activación de los mismos, median el efecto de PGE₂ para vasodilatar en los vasos sanguíneos.
- Por otro lado PGI₂ estimula la liberación de renina, que a su vez aumenta la aldosterona. La aldosterona aumenta la reabsorción de sodio y la secreción de potasio en la nefrona distal. PGI₂, por lo tanto, estimula la liberación de renina, y la inhibición de la COX, al inhibir la formación de PGI₂, consecuentemente la suprime. Se ha demostrado que la inhibición de la COX en el aparato yuxtaglomerular perfundido aislado de conejo casi elimina por completo la liberación de renina en respuesta a la disminución de la concentración. (60)

Los PG, son por tanto, vasodilatadores que aumentan por diferentes métodos el flujo sanguíneo renal. Es por ello que mediante la utilización de Antiinflamatorios no esteroideos (AINES) se consigue inhibir la producción de prostaglandinas, encargadas de la dilatación de la arteriola aferente del glomérulo, y consecuentemente se reduce el flujo sanguíneo en el glomérulo.

Mediante el uso de Aspirina, se consigue entonces una importante reducción de la proteinuria, que es finalmente lo que busca el tratamiento combinado en esta paciente, debido a sus niveles en rango nefrótico.

Hay varios datos importantes a tener en cuenta en relación con el tratamiento con Aspirina en esta paciente que deben ser resaltados:

- 1- El tratamiento con Enalapril es capaz de descender los niveles de proteinuria de la paciente hasta unos 70mg/24h, pero es únicamente la combinación de ambos tratamientos (Enalapril + Aspirina) la que consigue descender los niveles de proteínas en orina por debajo de 30mg/24h.
- 2- La Aspirina es un fármaco con efectos secundarios importantes, como la lesión de la mucosa gástrica (60), pero no es teratógeno, por lo que es una buena opción de tratamiento para la paciente en caso de gestación.
- 3- Se consigue una reducción de los niveles de proteínas en orina hasta alrededor de 150mg/24h con tratamiento basado únicamente en Aspirina, por lo que consideramos que son niveles aceptables y podría ser el tratamiento más acertado para esta paciente en caso de una gestación de 9 meses, sin necesidad de ser combinada con otros fármacos.

1.6.- Conclusiones

La relación de la mutación genética de la paciente y el síndrome nefrótico corticorresistente ha sido demostrada, observándose la importancia que tiene la expresión del gen *XPO5* en la correcta función de las porinas y los podocitos. Otros factores como la función de los miRNAs, pueden ser fundamentales para el desarrollo del síndrome, por lo que también han sido explicadas y deben tenerse en cuenta.

Debido a las características de la paciente, mujer joven de 17 años, y la situación sanitaria actual, se ha considerado relevante y oportuno explicar el papel de los IECAs en el tratamiento de la paciente, sus efectos secundarios, contraindicaciones y la relación de los mismo con la infección por coronavirus. Se ha procedido también a explicar el mecanismo de acción y la importancia del uso de Aspirina en esta paciente.

Para otros aspectos más específicos se remite a las conclusiones del artículo científico del bloque 2.

1.7.-Bibliografía del bloque 1

1. National Center for Biotechnology Information. 2020. XPO5 Protein. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>. [Accessed 3/15/2020]
2. Braun DA, Sadowski CE, Kohl S, Lovric S, Astrinidis SA, Pabst WL, et al. Mutations in nuclear pore genes NUP93, NUP205 and XPO5 cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* (2016) 48:457–65.
3. Machuca E, Benoit G, Antignac C. Genetics of nephrotic syndrome: connecting molecular genetics to podocyte physiology. *Human molecular genetics*. 2009;18:R185–194.
4. Haraldsson, B., Nystrom, J. and Deen, W.M. (2008) Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria. *Physiol. Rev.*, 88, 451 – 487.
5. Le Berre, L., Herve, C., Buzelin, F., Usal, C., Souillou, J.P. and Dantal, J. (2005) Renal

- macrophage activation and Th2 polarization precedes the development of nephrotic syndrome in Buffalo/Mna rats. *Kidney Int.*, 68, 2079 – 2090.
6. Patrakka, J. and Tryggvason, K. (2007) Nephrin—a unique structural and signaling protein of the kidney filter. *Trends Mol. Med.*, 13, 396–403.
 7. Garg, P., Verma, R., Nihalani, D., Johnstone, D.B. and Holzman, L.B. (2007) Neph1 cooperates with nephrin to transduce a signal that induces actin polymerization. *Mol. Cell. Biol.*, 27, 8698–8712.
 8. Miosge LA, Field MA, Sontani Y, Cho V, Johnson S, Palkova A, et al. Comparison of predicted and actual consequences of missense mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(37):E5189-98.
 9. Meder B, Haas J, Keller A, Heid C, Just S, Borries A, et al. Targeted next-generation sequencing for the molecular genetic diagnostics of cardiomyopathies. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4(2):110-22.
 10. Xue Y, Ankala A, Wilcox WR, Hegde MR. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exome/genome sequencing. *Genet Med*. 2015;17(6):444-51.
 11. Caspar SM, Dubacher N, Kopps AM, Meienberg J, Henggeler C, Matyas G. Clinical sequencing: From raw data to diagnosis with lifetime value. *Clin Genet*. 2018;93(3):508-19.
 12. Utilidad de la secuenciación del exoma en el diagnóstico de dismorfias con o sin discapacidad intelectual. Revisión de la literatura. Francisco Javier García León, María José Aguado Romero, Flora Sánchez Jiménez, Antonio Romero Tabares, Soledad Benot López — Sevilla: Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía, 2017.
 13. Caspar SM, Dubacher N, Kopps AM, Meienberg J, Henggeler C, Matyas G. Clinical sequencing: From raw data to diagnosis with lifetime value. *Clin Genet*. 2018;93(3):508-19.
 14. Hehir-Kwa JY, Claustres M, Hastings RJ, van Ravenswaaij-Arts C, Christenhusz G, Genuardi M, et al. Towards a European consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing. *Eur J Hum Genet*. 2015;23(12):1601-6.
 15. Yohe S, Hauge A, Bunjer K, Kemmer T, Bower M, Schomaker M, et al. Clinical validation of targeted next-generation sequencing for inherited disorders. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139(2):204-10.
 16. Meienberg J, Bruggmann R, Oexle K, Matyas G. Clinical sequencing: is WGS the better WES? *Hum Genet*. 2016;135(3):359-62.
 17. Rehm HL, Bale SJ, Bayrak-Toydemir P, Berg JS, Brown KK, Deignan JL, et al. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing. *Genet Med*. 2013;15(9):733-47.
 18. Caspar SM, Dubacher N, Kopps AM, Meienberg J, Henggeler C, Matyas G. Clinical sequencing: From raw data to diagnosis with lifetime value. *Clin Genet*. 2018;93(3):508-19.
 19. Clamp M, Fry B, Kamal M, Xie X, Cuff J, Lin MF, et al. Distinguishing protein-coding and noncoding genes in the human genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(49):19428-33.

20. Eldomery MK, Coban-Akdemir Z, Harel T, Rosenfeld JA, Gambin T, Stray-Pedersen A, et al. Lessons learned from additional research analyses of unsolved clinical exome cases. *Genome Med.* 2017;9(1):26.
21. Alazami AM, Patel N, Shamseldin HE, Anazi S, Al-Dosari MS, Alzahrani F, et al. Accelerating novel candidate gene discovery in neurogenetic disorders via whole-exome sequencing of prescreened multiplex consanguineous families. *Cell Rep.* 2015;10(2):148-61.
22. Zhu X, Petrovski S, Xie P, Ruzzo EK, Lu YF, McSweeney KM, et al. Whole-exome sequencing in undiagnosed genetic diseases: interpreting 119 trios. *Genet Med.* 2015;17(10):774-81.
23. Meienberg J, Bruggmann R, Oexle K, Matyas G. Clinical sequencing: is WGS the better WES? *Hum Genet.* 2016;135(3):359-62.
24. Tattini L, D'Aurizio R, Magi A. Detection of Genomic Structural Variants from Next-Generation Sequencing Data. *Front Bioeng Biotechnol.* 2015;3:92.
25. Meienberg J, Bruggmann R, Oexle K, Matyas G. Clinical sequencing: is WGS the better WES? *Hum Genet.* 2016;135(3):359-62.
26. Tattini L, D'Aurizio R, Magi A. Detection of Genomic Structural Variants from Next-Generation Sequencing Data. *Front Bioeng Biotechnol.* 2015;3:92.
27. Belkadi A, Bolze A, Itan Y, Cobat A, Vincent QB, Antipenko A, et al. Whole-genome sequencing is more powerful than whole-exome sequencing for detecting exome variants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(17):5473-8.
28. Kremer LS, Bader DM, Mertes C, Kopajtich R, Pichler G, Iuso A, et al. Genetic diagnosis of Mendelian disorders via RNA sequencing. *Nat Commun.* 2017;8:15824.
29. Owen RP, Gong L, Sagreiya H, Klein TE, Altman RB. VKORC1 pharmacogenomics summary. *Pharmacogenet Genomics.* 2010;20(10):642-4.
30. Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, van de Vorst M, van Bon BW, Willemsen MH, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature.* 2014;511(7509):344-7.
31. Rauch A, Wieczorek D, Graf E, Wieland T, Ende S, Schwarzmayr T, et al. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: an exome sequencing study. *Lancet.* 2012;380(9854):1674-82.
32. Caspar SM, Dubacher N, Kopps AM, Meienberg J, Henggeler C, Matyas G. Clinical sequencing: From raw data to diagnosis with lifetime value. *Clin Genet.* 2018;93(3):508-19.
33. van Nimwegen KJ, van Soest RA, Veltman JA, Nelen MR, van der Wilt GJ, Vissers LE, et al. Is the \$1000 Genome as Near as We Think? A Cost Analysis of Next-Generation Sequencing. *Clin Chem.* 2016;62(11):1458-64.
34. Choi M, Scholl UI, Ji W, Liu T, Tikhonova IR, Zumbo P, et al. Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(45):19096-101.
35. Sun Y, Ruivenkamp CA, Hoffer MJ, Vrijenhoek T, Kriek M, van Asperen CJ, et al. Next-generation diagnostics: gene panel, exome, or whole genome? *Hum Mutat.* 2015;36(6):648-55.
36. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-24.

37. Houdayer C, Caux-Moncoutier V, Krieger S, Barrois M, Bonnet F, Bourdon V, et al. Guidelines for splicing analysis in molecular diagnosis derived from a set of 327 combined in silico/in vitro studies on BRCA1 and BRCA2 variants. *Hum Mutat*. 2012;33(8):1228-38.
38. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24.
39. GeneCards. The human gene database. 2020. Gene. [ONLINE] Available at: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=XPO5>
40. Kloosterman WP, Plasterk RH: The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell* 11: 441–450, 2006
41. Grimson A, Farh KK, Johnston WK, Garrett-Engele P, Lim LP, Bartel DP: MicroRNA targeting specificity in mammals: Determinants beyond seed pairing. *Mol Cell* 27: 91–105, 2007
42. Ho J, Ng KH, Rosen S, Dostal A, Gregory RI, Kreidberg JA. Podocyte-specific loss of functional MicroRNAs leads to rapid glomerular and tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(11):2069–75.
43. Shankland SJ: The podocyte's response to injury: Role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int* 69: 2131–2147, 2006
44. Roselli S, Gribouval O, Boute N, Sich M, Benessy F, Attie T, Gubler MC, Antignac C: Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area. *Am J Pathol* 160: 131–139, 2002
45. Holzman LB, St John PL, Kovari IA, Verma R, Holthofer H, Abrahamson DR: Nephric localizes to the slit pore of the glomerular epithelial cell. *Kidney Int* 56: 1481–1491, 1999
46. Katzung, Bertram G. (2007). «11». *Basic & Clinical Pharmacology* (9 edición). [McGraw-Hill](https://www.mhprofessional.com/9780071497612). pp. 250-253.
47. Remuzzi G, Bertani T: Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med* 339:1448-1456, 1998
48. Schieppati A, Mosconi L, Perna A, Mecca G, Bertani T, Garattini S, Remuzzi G: Prognosis of untreated patients with idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 329:85-89, 1993
49. Ruggenenti P, Mosconi L, Vendramin G, Moriggi M, Remuzzi A, Sangalli F, Remuzzi G. ACE Inhibition Improves Glomerular Size Selectivity in Patients With Idiopathic Membranous Nephropathy and Persistent Nephrotic Syndrome. National Kidney Foundation, Inc. 2000.
50. Thomas DM, Hillis AN, Coles GA, Davies M, Williams JD: Enalapril can treat the proteinuria of membranous glomerulonephritis without detriment to systemic or renal hemodynamics. *Am J Kidney Dis* 18:38-43, 1991
51. Vyssoulis GP, Karpanou EA, Papavassilou MV, Belegrios DA, Giannakopoulou AE, American Journal of Hypertension; Oxford tomo 14, NºS1, (Apr 2001): 114A-115A. DOI: 10.1016/S0895-7061(01)02111-2
52. Maroto S. Inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA). *Farmacología e indicaciones terapéuticas*. Elsevier.

53. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J Virology* 2020; published online Jan 29. DOI:10.1128/JVI.00127-20.
54. Yang X, Yu Y, Xu J, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020; published online Feb 24. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5).
55. Guan W, Ni Z, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020; published online Feb 28. DOI:10.1056/NEJMoa2002032.
56. Zhang JJ, Dong X, Cao YY, et al. Clinical characteristics of 140 patients infected by SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy* 2020; published online Feb 19. DOI:10.1111/all.14238.
57. Fang L, Karakiulakis G, Roth M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *Lancet Respir Med*. Published Online March 11, 2020 <https://doi.org/10.1016/Pll>
58. Komhoff M, Grone HJ, Klein T, Seyberth HW, Nusing RM. Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: implication for renal function. *Am J Physiol*. 1997;272:F460–F468
59. Smith WL. Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *Am J Physiol*. 1992;263:F181–F191.
60. Kim GH. Renal effects of prostaglandins and cyclooxygenase-2 inhibitors. *Electrolyte Blood Press*. 2008;6(1):35–41.

BLOQUE 2: PUBLICACIÓN DEL CASO CLÍNICO

2.1.- Publicar un trabajo científico

Un Trabajo Fin de Grado (TFG) no es un original para una revista biomédica. Su estructura tiene notables diferencias y además debe adaptarse a la normativa específica de cada universidad. Salvadas las diferencias de estructura, estilo y forma de redacción del contenido del TFG, deben ceñirse a las mismas normas y reglas de cualquier publicación científica.

La realización de un trabajo de investigación y su publicación forman parte integral de nuestro proceso básico de formación como estudiantes universitarios. Es importante que los alumnos conozcamos la relevancia de la publicación y del correcto proceso de Redacción Científica.

Publicar es parte del proceso de investigar

Investigar y publicar son dos actividades estrechamente relacionadas, son la cara y la cruz de una misma realidad. Los proyectos van más allá de la entrega de resultados. Los investigadores no solo deben producir conocimiento, sino difundirlo. Es esto lo que hace a la comunidad académica una gran productora de saber, cuyo soporte principal es el texto escrito. Los investigadores, por lo tanto, deben gestionar de forma permanente y variada la divulgación general y especializada de los hallazgos, lo cual implica pasar por la escritura de diversas maneras.

Las tres claves para conseguir publicar

Independientemente de con qué método se evalúen los trabajos, publicar puede ser muy relevante para cualquier estudiante o investigador. Es una forma objetiva de evaluar el trabajo de los mismos y recibir retroalimentación tanto positiva como negativa de expertos en esa área de conocimiento. Nos planteamos realizar este trabajo fin de grado a partir de la elaboración de una publicación científica considerando tres claves:

Primera clave: interés para el Editor y el lector

Lo que nos planteamos publicar tiene que ser original y novedoso, no debe haber sido publicado antes. Orientamos una búsqueda bibliográfica exhaustiva y, no encontramos un trabajo similar al nuestro o al que en un primer momento teníamos en mente.

El enfoque y los resultados consideramos que tienen relevancia para mejorar la atención de los pacientes. Si no la tuviese, no interesaría al Editor ni al lector. Adicionalmente, consideramos que nuestros hallazgos son importantes porque cambian el conocimiento actual respecto al síndrome nefrótico corticorresistente.

Segunda clave: Calidad

La Calidad del diseño y la metodología del estudio son, junto a la reproducibilidad del mismo (Calidad científica), los elementos imprescindibles para publicar. En nuestro

caso tratándose de un caso único hemos tenido que justificar la validez del caso único. Por otro lado habiendo encontrado un defecto genético de significado incierto hemos tenido que recurrir a justificaciones muy básicas, como es la posible alteración de micro RNAs, sin haber reanalizado estudios en este sentido. Es importante también la forma de redactar, con brevedad, claridad y de forma adecuada a las normas de la revista (Calidad formal).

Tercera clave: elegir la revista adecuada

Dado que sigue imperando la validez de un trabajo sustentada en el factor de impacto, hemos preparado el manuscrito para la revista de mayor factor de impacto que tenga un tema y un enfoque compatibles con el mensaje de nuestra investigación. Si no lo aceptan, por lo menos esperamos tener las correcciones necesarias para revisar el manuscrito y enviarlo después a otra de la lista con menor factor de impacto. Inicialmente optamos por enviar la publicación a *Pediatric Nephrology*, la revista de mayor impacto en el área de nefrología pediátrica. Dado que el trabajo se trata de un caso único, el editor de la revista no consideró pasarlo a revisores y nos ofreció publicarlo en una revista menor con un escaso índice de impacto de 0,2 (Q4 en la clasificación de *SCImago Journal Rank* y no considerado en *Journal Citation Report*). Posteriormente enviamos el artículo a la revista *Journal of Medical Case Reports*, *JMCR*, una revista con menos factor de impacto que *Pediatric Nephrology* pero que se adecuaba más a las características del artículo al tratarse de un caso único. Esta revista está en Q3 y tiene unos factores de impacto de 0,73 en *Scopus* y Q3 y FI 0,26 en *SCImago Journal Rank*. Actualmente se encuentra en fase de revisores tras haber sido aprobada por el editor.

2.2.- Validez del estudio de caso único ($n = 1$ ó $n\text{-de-}1$)

Muchos profesionales de la salud reconocen que la práctica de la medicina debería basarse en una medicina individualizada. Este tipo de medicina consiste en tratar a cada paciente como un sujeto individual a estudio, y consecuentemente, determinar objetiva y empíricamente la mejor terapia para su beneficio.

Los ensayos $n\text{-de-}1$ se centran en la intervención óptima para un solo paciente, alejándose, por tanto, de la generalización. En ocasiones esta aproximación es la única posible debido a las particularidades del caso clínico (p.ej. en enfermedades ultra-raras). Es necesario tener en cuenta que este tipo de estudio es especialmente compatible con la finalidad de la práctica clínica: el cuidado de pacientes de forma individual y personalizada.

La medicina individualizada expone, por consiguiente, que es necesario reconocer y adaptarse a las características únicas de cada paciente, particularmente a nivel genético, y tratar de individualizar consecuentemente la atención que les damos como profesionales.

Los estudios n-de-1 son una forma prometedora de avanzar en el conocimiento científico y un método para obtener información sobre la efectividad del tratamiento comparativo entre una amplia variedad de pacientes.

Existe una corriente de pensamiento, cada vez más extendida, que expone que el desarrollo de intervenciones médicas que funcionan de manera generalizada para la mayoría de las afecciones crónicas comunes es excepcionalmente difícil, y que, con demasiada frecuencia, ha demostrado ser poco productivo. (1)

La generalización de los resultados ha sido un tema de gran importancia histórica y clínica en el diseño y la realización de ensayos clínicos. Especialmente relevante ha sido si estos ensayos clínicos sugieren que una nueva intervención tiene utilidad. Pero la variabilidad entre sujetos e intervenciones hace que la generalización de ciertas terapias sea dificultosa, por lo que en ciertas situaciones los ensayos de n-de-1 pueden ser los más provechosos.

Ventajas de los ensayos n-de-1:

- Pueden tener un diseño algo heterogéneo (por ejemplo, el número y la duración de los períodos de tratamiento con diferentes fármacos, como es el caso de la paciente a estudio). Dicha heterogeneidad, a menudo, no se tolera en los protocolos de ensayos basados en una gran población, donde se enfatiza la uniformidad para evitar la confusión de las generalizaciones.
- Los pacientes involucrados en los ensayos n-de-1 obtienen un beneficio inmediato del ensayo. Esto es diferente a muchos ensayos clínicos en los que, según el protocolo y el diseño utilizado, un individuo puede haber recibido placebo durante todo el ensayo.
- El tiempo y los gastos asociados a la realización de ensayos n-de-1 es mucho menor. (2,3)

Desventajas:

- Cada estudio y sus resultados son únicamente aplicables al paciente a estudio. No se puede consecuentemente generalizar los resultados de un solo análisis de caso único a toda la población.
- La correlación en las series medidas. Dado que los datos se recopilan en un solo individuo, con intervalos cortos de tiempo, las observaciones tomadas en puntos de tiempo adyacentes o cercanos exhibirán fuertes correlaciones. (4). Por el contrario, será posible ver mucha variación en las medidas si los periodos de tiempo entre observaciones son muy largos, debido al azar y a que los datos pertenecen a una única persona.

Por tanto ¿cómo se puede intentar solventar alguna de las desventajas que presentan los estudios de caso único?

Aunque los ensayos n-de-1, por definición, evitan aparentemente la consideración de los efectos a nivel poblacional de una intervención, no necesariamente tiene por qué ser así.

Si se realizan múltiples ensayos n-de-1, que investigan los mismos tipos de intervenciones, es posible realizar estudios conjuntos o meta-analíticos de los datos generados a partir de esos ensayos. Esto sirve para, en primer lugar, mejorar la atención médica de los pacientes y, en segundo lugar, identificar características comunes entre los pacientes que finalmente responden mejor a una intervención particular. (5,6)

Esto se consigue anotando y contrastando las características de cada paciente, para posteriormente, identificar aquellas características distintivas entre los pacientes que obtuvieron mejores resultados en una intervención específica. Si se encuentra dicha característica común a todos los pacientes con un tratamiento satisfactorio, se puede utilizar esta información en un futuro. (4)

Este tipo de análisis de datos comienza de una manera pequeña y enfocada, observándose al individuo de manera individualizada. Luego avanza hacia características observadas en varios de estos individuos, lo que beneficiaría a un grupo mucho más grande de pacientes, a pesar de la falta de generalización inmediata de los resultados.

Aplicaciones presentes y futuras de los estudios de caso único

Los ensayos n-de-1 pueden ser valiosos para evaluar las indicaciones para un medicamento o intervención. Si, por ejemplo, se considera que un medicamento originalmente diseñado para su uso en el tratamiento de una patología específica puede ser valioso para tratar a un paciente con otra patología, se podría probar el medicamento comparándolo con un tratamiento estándar en pacientes individuales.

Si la evidencia sugiere que el medicamento tiene potencial para tratar esta nueva patología, se podrían realizar, posteriormente, ensayos más grandes, tradicionales para investigar el medicamento para un uso más generalizado. (4)

Avanzar hacia un sistema de atención de la salud más individualizado y basado en estudios de caso único no solo sirve para tratar de forma más personalizada a cada paciente, sino que también permite a la comunidad científica evolucionar e innovar en relación a diferentes tratamientos o intervenciones. Los resultados de estudios n-de-1 no solo son de beneficio inmediato para el paciente, sino que, como ha sido explicado anteriormente, el meta-análisis de varios de estos estudios puede ayudar a identificar características en aquellos pacientes respondedores al tratamiento, que pueden ser posteriormente posiblemente informadas al resto de la población.

Los estudios de caso único serán una opción interesante y muy válida en el futuro pero también juegan un papel fundamental actualmente, especialmente en las

enfermedades raras como la que presenta la paciente a estudio, con una forma no habitual de síndrome nefrótico cortico-resistente.

2.3.- Case Report: Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with aspirin and angiotensin-converting enzyme inhibitors in a pediatric patient with *XPO5* mutation.

Abstract

We present a single-case study of a 17-year old woman with steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) and a potentially pathogenic mutation in *XPO5* gene, a known porine regulator. Proteinuria was successfully controlled with low-dose aspirin and the angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) enalapril, for more than a decade. The significance of the clinical observation is derived from a structured research based on a single case study. Every time (four times) the treatment was removed, nephrotic range proteinuria reappeared in few weeks, reassuring the clinical relevance of the stated treatment (ACEI *plus* acetylsalicylic acid (AAs)) in controlling the patient's proteinuria within normal range. The case exposes the importance of defining gene mutations and their clinical correlation, and most importantly, alternative treatments that could be helpful in the control of proteinuria in SRNS.

Introduction

The diagnosis and management of steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) remains a challenge to pediatric nephrologists. Identification of an underlying genetic basis allows clinical observations in molecularly defined patient cohorts, which impacts prognosis and treatment (1). Indeed, several reports so far indicate that children with SRNS caused by mutations in some genes (i.e. *NPHS1* and *NPHS2*), do not respond to immunosuppressive treatment (2-5), whereas some with an underlying mutation in *WT1* appear to respond to treatment with cyclosporine (6).

Over 30 monogenic genes have been identified in various subcellular compartments of the glomerular podocyte (7-11), playing a critical role in mitochondrial function, actin cytoskeleton dynamics, cell-matrix interactions, slit diaphragm, and podocyte integrity, which revealed these glomerular epithelial cells as the critical site of SRNS (12-14).

Whereas mutations in the nuclear pore genes *NUP9* and *NUP205* have been associated with podocyte dysfunction and nephrotic syndrome, there are no reported mutations in *XPO5* encoding the nuclear export protein exportin 5, a known porine regulator (15). We present a single-case study of a 17-year old woman with SRNS and a potentially pathogenic mutation in *XPO5* gene successfully controlled with aspirin and enalapril for more than a decade. The case exposes the importance of defining gene mutations and their clinical correlation, and most importantly, the proposed alternative treatments that could be helpful in the control of proteinuria in SRNS. Moreover, initial testing for gene mutation in children with SRNS may obviate the need for biopsy.

Methods: Case report and single-case study design

This study is based on the follow-up of a 17-year-old woman with SRNS in the Pediatric Nephrology Division of the Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, from 2003 to 2020.

The structure of this research consists on a single case study with an ABABABABAB design, A being the phases where the patient had no treatment, and B the stages where the patient was being treated. According to the design, the treatment has been inserted and removed in four occasions, all of them coinciding with the different stages in child development: child (age 4), pre-puberal (age 8), adolescent (12) and adult (17) (Figure 1).

During the more than fourteen-years follow-up, quantification of albuminuria, blood urea and serum creatinine measurements were performed regularly to monitor kidney function and relapses of the nephrotic syndrome. Normal proteinuria was considered for Alb < 30 mg/24 h and/or Alb/Cr < 30 mg/g.

The diagnosis of SRNS was made at the age of two years, as she did not respond to the standard steroid therapy with oral prednisone 60 mg/m²/d for 4 weeks. Blood urea and serum creatinine were normal. Other investigations included hepatitis B and C serology, human immunodeficiency virus 1 and 2 serology, and complement C3 and C4 levels and antinuclear antibody assays.

As the family refused renal biopsy and the patient was clinically stable and well controlled, we considered the possibility of starting treatment with low-dose aspirin (100 mgr/day) *plus* enalapril 2 mgr/day and prolonged alternate day course of prednisone at 40 mg/m². Proteinuria disappeared (< 30 mg/24 h) in two weeks thus we considered the possibility of a SRNR sensitive to enalapril *plus* aspirin then removing corticosteroids from the treatment. Under this combined treatment, both 24 hours-urine albuminuria and albumina creatinine ratio (Alb/Cr in mg/g) were maintained always within normal ranges. Periodically the treatment regimen was reevaluated with suppression and re-introduction of the drugs according to the albuminuria range. Low-dose aspirin dose has been consistent throughout the follow-up, whereas enalapril doses were increased every time the treatment was removed and reintroduced to the patient. The dose of enalapril used for this patient was approximately 0.1-0.2 mg/kg/day, 2 mg from onset to first removal at the age of four, 4 mg from age four to age 12, and 8 mg from age 12 to age 17.

Every time the combined treatment (enalapril *plus* aspirin) was removed, significant proteinuria closed to the nephrotic range reappeared in few weeks, reassuring the clinical relevance of the stated treatment in maintaining the patient's albuminuria within normal range (Alb < 30 mg/24 h and/or Alb/Cr < 30 mg/g). Although just based on clinical criteria, we observed that the combined treatment with both drugs normalizes the albuminuria with no apparent side effects. With the results of the genetic study (see below), at the age of 16 we reassessed the benefits of treatment

taking into account the impact that ACEIs could have on the patient's offspring because of the drug's teratogenic effect.

A treatment based only on aspirin was able to maintain proteinuria out of the nephrotic range with significant albuminuria of 100-150 mg/24h with no clinical manifestation. Incidentally in 2010, at the age of 7, the winter after the 2009 influenza A (H1N1) epidemic she was treated only with enalapril for over 6 months as a prevention for Reye Syndrome. Levels were also under the nephrotic range, with albuminuria (50-70 mg/24 h), and no clinical repercussion.

As the identification of an underlying genetic basis parallel to the clinical observations could have an impact on genetic assessment and counseling, prognosis and treatment, and moreover, in order to explain the putative mechanisms for the excellent response of the patient to enalapril and aspirin, an extended mutation panel for SRNS was designed (table 1).

A mutation in heterozygosity was detected in the candidate's gene *XPO5* (MIM 607845), which consists of a transition from a T to a C (c.2976T> C) that, at the protein level, presumably produces a synonym change at position 992 (p.D992D). Its frequency in population databases is very low (MAF: 0.0005; 1000 genomes) and presently there is no published evidence of its clinical implication.

Discussion

This is the first clinical case description of a patient with nephrotic-range-proteinuria resistant to steroid treatment, secondary to a mutation in the nuclear exportin-5 *XPO5*, successfully controlled with enalapril *plus* aspirin for more than a decade. *XPO5* encodes nuclear export protein exportin-5, fundamental in nuclear exportation along with nucleoporins. *XPO5* is expressed throughout renal development, and in adult rat glomeruli, exportin 5 colocalized in podocytes with synaptopodin, a marker of primary and secondary podocyte foot processes. The pattern has been described for many other products of genes that when mutated cause SNRS. There are several mutations that have already been described in the porines NUP9 and NUP205, as possible etiologies of SNRS (16).

The change in heterozygosity detected in the candidate gene *XPO5* (MIM 607845), consists of a transition from a T to a C (c.2976T> C), and although at the protein level presumably produces a synonym change it could have pathogenic effects. The *in silico* analysis with the prediction program used (Human Splicing Finder) does not predict an impact on canonical splicing sites, nor does it indicate that this change of place may create a new cryptic splicing site. However, any alterations of *XPO5*, resulting from genetic mutation, epigenetic change, abnormal expression level or post-translational modification, could affect microRNAs (miRNA) expression. miRNAs are conserved small non-coding RNAs that play an important role in the regulation of gene expression and participate in a variety of biological processes. The transportation of precursor miRNAs (pre-miRNAs) from the nucleus to the cytoplasm by *XPO5* plays a critical role in miRNA biogenesis (17).

miRNA function is dispensable for the initial development of glomeruli but it has been demonstrated to be critical to maintain the glomerular filtration barrier (18).

Our description not only widens the discussion of possible etiologies of SRNS within a potential clinical involvement of *XPO5*, but also clinically demonstrates the success of a specific treatment in the control of the proteinuria. Reducing the urinary loss of plasma proteins may diminish the risk of nephrotic complications in SRNS patients. Besides ACE inhibitors have been shown to lower protein excretion based on its effects on intraglomerular pressure (19). ACEIs decrease bradykinin breakdown, which also stimulates the synthesis of other vasodilatory prostaglandins by the cyclooxygenase enzyme (20).

In addition, there are different studies that demonstrated that inhibition of the renin angiotensin system by ACEI further influences microRNAs (miRNA) expression in blood (21).

Aspirin has been reported to modify the course of glomerulonephritis, probably by altering renal hemodynamics, platelet aggregation, and mesangial proliferation. The major mechanisms underlying its benefits are the inhibitory effects on platelet activation and prostanoid biosynthesis induced by COX-1 and COX-2 inactivation (22). miRNAs are newly proposed mediators of the effects of aspirin (23).

In our patient, albuminuria, when treated with low-dose aspirin, was consistently higher than albuminuria when treated with enalapril alone or the combination of both drugs. The concomitant use of ACEIs and low-dose aspirin is recommended for any diabetic patient with microalbuminuria or macroalbuminuria because these drugs result in renal and cardiovascular benefits (24,25).

Although we did not study the mechanisms described above (changes in renal hemodynamics or in the glomerular filtration barrier), the design (ABABABABAB) of our single case study has successfully proven the efficacy of the combined treatment with low-dose aspirin and enalapril in the control of proteinuria. Every time the treatment was retired nephrotic range proteinuria levels reappear. The treatment has been withdrawn and reintroduced in four occasions, seeing the correlation that existed between periods of proteinuria up to 5 grams per day (when the patient had no treatment), to protein levels below 30 mg/24h when the patient was under treatment with the combination of enalapril and aspirin. Albeit a putative pharmacological interaction between NSAIDs and ACEIs is plausible, we have not observed loss of the antiproteinuric properties of the ACEIs in our patient.

Furthermore, secondary effects of these drugs have to be taken into consideration when dealing with specific patients. In our patient ACEIs have proven to be the best alternative to steroids, but they have a demonstrated teratogenic effect (26). Maternal medication with an ACE inhibitor in the first trimester is associated with increased risk of a major congenital malformation (27). Consequently, in a young woman with a future desire to have offspring, we considered the need to explore an alternative treatment during a potential future pregnancy. Even though the combination of enalapril *plus* aspirine was the most successful treatment, a treatment based only on low-dose aspirine has also proven to control proteinuria levels in a tolerable range

throughout a possible pregnancy. It is important to note that strict monitoring of patient's basal proteinuria in absence of ACEIs is mandatory previously to a pregnancy, in order to avoid confounders of a possible pre-eclampsia. As when treated just with low-dose aspirin her albuminuria is significant (aprox. 100 mgr/24h), we must inform and prevent a possible induction of premature labor in a patient with no preeclampsia but significant proteinuria due to her renal pathology.

Genetic studies were also performed in the patient's parents, finding out that the patient inherited the mutation in *XPO5* from her mother. Further studies showed normal renal function and no significant proteinuria in the mother, thus the detected mutation in *XPO5* is not the unique factor involved in the etiology of this patient's SRNS. Therefore, other factors, such as miRNAs, should be considered. However, our study supports the combined treatment of enalapril plus low-dose aspirin for the SRNS due to mutations in the nuclear pore complex (28).

Conclusions

Identification of an underlying genetic basis of SRNS could have a significant impact in prognosis and treatment, and initial testing for gene mutation in children with SRNS may obviate the need for biopsy. *XPO5* mutations should be considered in the pathogenesis of SRNS. We demonstrated a clinical respond to a combined treatment of ACEIs and aspirin. A consistent withdrawal and introduction of the treatment throughout different child ages shows the importance of these drugs in an effective control of proteinuria.

ARTICLE REFERENCES

- (1) Bockenhauer D, Medlar AJ, Ashton E, Kleta R, Lench N. Genetic testing in renal disease. *Pediatr Nephrol.* 2012;27:873–883.
- (2) Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:722–732.
- (3) Santin S, Tazon-Vega B, Silva I, et al. Clinical value of NPHS2 analysis in early- and adult-onset steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:344–354.
- (4) Hinkes B, Vlangos C, Heeringa S, et al. Specific podocin mutations correlate with age of onset in steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:365–371.
- (5) Buscher AK, Kranz B, Buscher R, et al. Immunosuppression and renal outcome in congenital and pediatric steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:2075–2084.
- (6) Gellermann J, Stefanidis CJ, Mitsioni A, Querfeld U. Successful treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome associated with WT1 mutations. *Pediatr Nephrol.* 2010;25:1285–1289.

- (7) Vasudevan A, Siji A, Raghavendra A, Sridhar TS, Phadke KD. NPHS2 mutations in Indian children with sporadic early steroid resistant nephrotic syndrome. *Indian Pediatr.* 2012;49:231–233.
- (8) Gigante M, Caridi G, Montemurno E, et al. TRPC6 mutations in children with steroid-resistant nephrotic syndrome and atypical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:1626–1634.
- (9) Mir S, Yavascan O, Berdeli A, Sozeri B. TRPC6 gene variants in Turkish children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:205–209.
- (10) Li J, Ding J, Zhao D, et al. WT1 gene mutations in Chinese children with early onset nephrotic syndrome. *Pediatr Res.* 2010;68:155–158.
- (11) Benoit G, Machuca E, Nevo F, Gribouval O, Lepage D, Antignac C. Analysis of recessive CD2AP and ACTN4 mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2010;25:445–451.
- (12) Nourbakhsh N, Mak RH. Steroid-resistant nephrotic syndrome: past and current perspectives. *Pediatr Health Med Therap.* 2017;8:29–3.
- (13) Machuca E, Benoit G, Antignac C. Genetics of nephrotic syndrome: connecting molecular genetics to podocyte physiology. *Human molecular genetics.* 2009;18:R185–194.
- (14) Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. *Kidney international.* 2007;71:1205–1214.
- (15) Cil O and Perwad F (2018) Monogenic Causes of Proteinuria in Children. *Front. Med.* 5:55.
- (16) Braun DA, Sadowski CE, Kohl S, Lovric S, Astrinidis SA, Pabst WL, et al. Mutations in nuclear pore genes NUP93, NUP205 and XPO5 cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* (2016) 48:457–65.
- (17) Wu K, He J, Pu W, Peng Y. The Role of Exportin-5 in MicroRNA Biogenesis and Cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2018;16(2):120–126.
- (18) Ho J, Ng KH, Rosen S, Dostal A, Gregory RI, Kreidberg JA. Podocyte-specific loss of functional MicroRNAs leads to rapid glomerular and tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(11):2069–75.
- (19) Don BR, Kaysen GA, Hutchinson FN, Schambelan M. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and dietary protein restriction in the treatment of proteinuria. *Am J Kidney Dis* 1991; 17: 10-17.
- (20) American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 30:4–41, 2007.
- (21) Weber M, Baker MB, Patel RS, Quyyumi AA, Bao G, Searles CD. MicroRNA Expression Profile in CAD Patients and the Impact of ACEI/ARB. *Cardiol Res Pract.* 2011;2011:532915.
- (22) Patrono C, Pierucci A. Renal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in chronic glomerular disease. *Am J Med* 1986; 81 [Suppl. 2b]: 71-83.
- (23) Paseban M, Marjaneh RM, Banach M, Riahi MM, Bo S, Sahebkar A. Modulation of microRNAs by aspirin in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2019 Aug 14. pii: S1050-1738(19)30114-8.
- (24) Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T: Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 28:164–176, 2005.

- (25) Spaulding C, Charbonnier B, Chohen-Solal A, Juilliere Y, Kromer EP, Benhamda K, Cador R, Weber S: Acute hemodynamic interaction of aspirin and ticlopidine with enalapril: results of a double-blind, randomized comparative trial. *Circulation* 98:757–765, 1998.
- (26) Cooper WO, Hernandez-Diaz S, Arbogast PG, et al. Major congenital malformations after first-trimester exposure to ACE inhibitors. *N Engl J Med* 2006; 354:2443.
- (27) Fitton CA, Steiner MFC, Aucott L, Pell JP, Mackay DF, Fleming M, McLay JS. In-utero exposure to antihypertensive medication and neonatal and child health outcomes: a systematic review. *J Hypertens.* 2017;35(11):2123.
- (28) Grossman E, Medalia O, Zwerger M. Functional architecture of the nuclear pore complex. *Annual review of biophysics.* 2012;41:557–584.

Table 1.- SRNS panel genes classified by their function and possible repercussion. Extended mutation panel for SRNS including genes and their functions. Only genes and functions most relevant to the case study are included. Ref. National Center for Biotechnology Information. 2020. Gene. [ONLINE] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>. [Accessed 3/15/2020]

Gene function	Actin cytoskeleton dynamics	Cell–matrix interactions	Slit diaphragm and podocyte integrity	Mitochondrial function	Encoding of Porins and regulators	Other functions
Genes	<i>ACTN4</i> <i>ANLN</i> <i>ARHGAP24</i> <i>INF2</i> <i>MYO1E</i> <i>WDR73</i>	<i>ITGA3</i> <i>ITGB4</i> <i>LAMB2</i> <i>EMP2</i>	<i>NPHS1</i> <i>NPHS2</i> <i>PLCE1</i> <i>LMX1B</i> <i>WDR73</i> <i>CD2AP</i> <i>TRPC6</i>	<i>COQ2</i> <i>COQ6</i> <i>PDSS2</i>	<i>NUP205</i> <i>NUP93</i> <i>XPO5</i>	<i>ARHGDIA</i> <i>CFH</i> <i>CRB2</i> <i>CUBN</i> <i>PTPRO</i> <i>SCARB2</i> <i>SMARCAL1</i> <i>WT1</i>

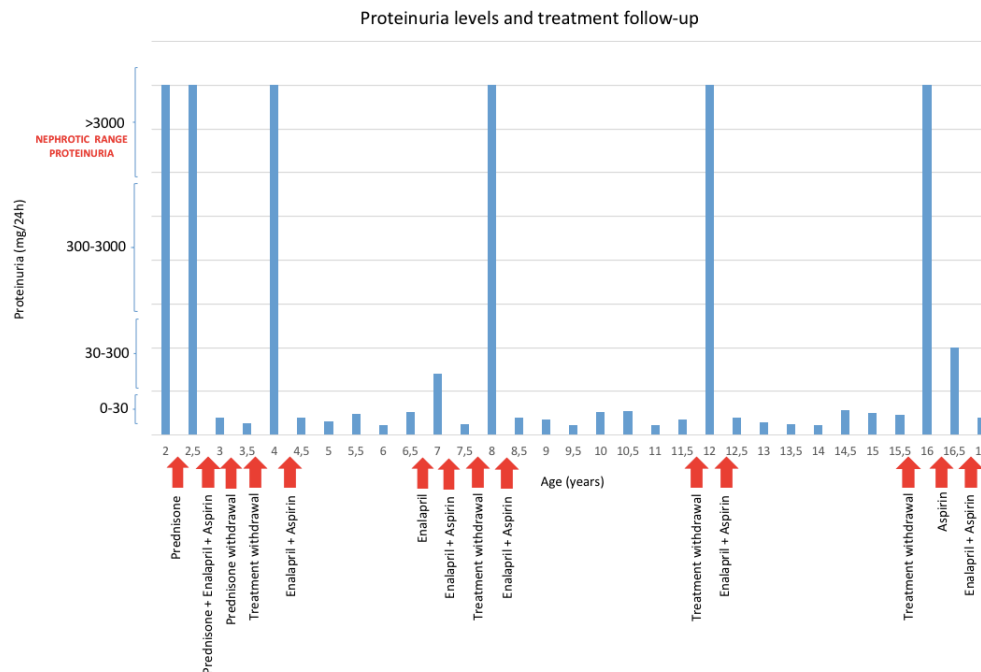


Figure 1.- Proteinuria range and treatment follow-up. Proteinuria (vertical bars) during the follow-up and moments of implementation and withdrawal of treatment (arrows).

2.4 Bibliografía del bloque 2

1. Jorgensen JT. Are we approaching the post-blockbuster era? Pharmacodiagnosics and rational drug development. *Expert Rev Mol Diagn.* 2008; 8(6):689–695.
2. Pope JE, Prashker M, Anderson J. The efficacy and cost effectiveness of n-of-1 studies with diclofenac compared with standard treatment with nonsteroidal antiinflammatory drugs in osteoarthritis. *J Rheumatol.* 2004; 31(1):140–149. [PubMed: 14705233]
3. Scuffham PA, Yelland MJ, Nikles J, Pietrzak E, Wilkinson D. Are n-of-1 trials an economically viable option to improve access to selected high cost medications? The Australian experience. *Value Health.* 2008; 11(1):97–109. [PubMed: 18237364]
4. O Lillie E, Patay B, Diamant J, Issel B, Topol E, Schork N. The n-of-1 clinical trial: the ultimate strategy for individualizing medicine? *Per Med.* 2011 March ; 8(2): 161–173. doi:10.2217/pme.11.7.
5. Zucker DR, Schmid CH, McIntosh MW, D'Agostino RB, Selker HP, Lau J. Combining single patient (n-of-1) trials to estimate population treatment effects and to evaluate individual patient responses to treatment. *J Clin Epidemiol.* 1997; 50(4):401–410. This paper and a recently published follow-up paper discuss the statistical methodology involved in combining n-of-1 trials.
6. Huber AM, Tomlinson GA, Koren G, Feldman BM. Amitriptyline to relieve pain in juvenile idiopathic arthritis: a pilot study using Bayesian metaanalysis of multiple n-of-1 clinical trials. *J Rheumatol.* 2007; 34(5):1125–1132.

DISCUSIÓN GENERAL

El presente Trabajo Fin de Grado es un claro ejemplo sobre la utilidad que tiene la medicina personalizada. El elemento principal del trabajo es un estudio de caso único, en el que se expone el caso de una paciente del Servicio de Pediatría del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de 17 años. La paciente, que presenta un síndrome nefrótico corticorresistente secundario a una mutación ultrarrara en el gen *XPO5*, identificada gracias a métodos de secuenciación genética, ha sido seguida durante más de una década y controlada satisfactoriamente gracias a un tratamiento basado en IECAs y AINES. Los aspectos más específicos del caso clínico se han discutido en el apartado anterior.

Otros aspectos relevantes están ligados a la utilidad del propio trabajo. Para la realización de este trabajo Fin de Grado ha sido necesario haber adquirido e integrado información sobre diferentes cursos del Grado de Medicina. Desde conceptos obtenidos los primeros años sobre ciencia básica, hasta la forma de atender pacientes o la empatía lograda durante los últimos años de estudio. El Trabajo Fin de Grado es un proyecto fundamental para la finalización de los estudios universitarios. No únicamente por ser un requisito académico indispensable, sino porque es necesario para una correcta comprensión global del grado.

Este trabajo ha sido la oportunidad perfecta para reflexionar sobre aspectos fundamentales de la Medicina y especialmente la investigación. Ha sido necesario hacer un repaso importante sobre asignaturas de toda la carrea, permitiéndome apreciar y dar la importancia que tienen a cada una de ellas:

- Han sido fundamentales tanto la asignatura de Genética (para comprender las mutaciones y la repercusión de las mismas o los métodos de secuenciación genética), como Bioquímica (los microRNAs o las estructuras moleculares de las proteínas).
- Fisiología Humana para entender los mecanismos fisiológicos del riñón y la repercusión que puede tener una alteración de los mismos. La función de las porinas, la membrana de filtración o los mecanismos que influyen en el filtrado glomerular son también conceptos adquiridos mediante el estudio de esta asignatura.
- Bioestadística y Epidemiología para comprender la importancia de los estudios de caso único (como el realizado en esta paciente) y valorar los aspectos más importantes sobre el consentimiento informado o la importancia del comité de ética. En este caso fue éticamente necesario para la realización del artículo obtener un consentimiento informado, pero también fue importante para mi saber que la familia estaba de acuerdo y totalmente dispuesta a ayudar en la realización del mismo.
- Haber estudiado tanto Farmacología Básica como Clínica han sido necesario para conocer los mecanismos de acción y el por qué de la elección de estos medicamentos para el tratamiento de esta paciente.

- La asignatura de Ginecología y Obstetricia para darme cuenta de la repercusión que podría tener el consumo de IECAs durante el embarazo en la correcta formación del feto.
- La asignatura de Nefrología para comprender la repercusión que la mutación del gen de la porina tiene a nivel renal y el por qué del síndrome nefrótico en esta paciente.
- Por último la asignatura de Pediatría, que permite adquirir una visión global sobre la salud del niño. Aprender a tratar a cada paciente según sus características, acercándome en este caso a comprender mejor el concepto de medicina personalizada. Me ha ayudado especialmente a entender la situación de vulnerabilidad de los niños y las importantes repercusiones que tiene una correcta actuación médica a edades tempranas en la salud y esperanza de vida de los mismos en un futuro.

A partir de este trabajo he podido, por lo tanto, adquirir una visión global de la medicina y darme cuenta de la necesidad de aplicar conocimientos adquiridos en diferentes disciplinas para poder alcanzar una atención sanitaria exitosa.

Por otro lado he podido acercarme al proceso de investigación y ver en primera persona cómo es el desarrollo de publicación de un artículo en una revista científica. He podido comprender todo el trabajo y tiempo que lleva. No solamente es complicado obtener una hipótesis interesante inicial, sino que también hay que estudiar mucho sobre el tema, dedicarle mucho tiempo a la paciente (en este caso ha sido estudiada durante más de 15 años) y escribir y reescribir el artículo hasta expresar de la forma más adecuada posible tu hipótesis y la evidencia encontrada. Es importante el rigor en la estructura, redacción y presentación no solo de los resultados, sino también de apartados como la bibliografía o los aspectos éticos y formales (autoría, financiación, conflicto de intereses, etc.)

Ha sido especialmente interesante ver que el trabajo que supone realizar el artículo, es valorado por las revistas. A pesar de que rechacen el artículo, inicialmente se envió para publicar en otra revista, y opinen que necesita cambios, muestran interés por el mismo.

Por último, la realización del Trabajo de Fin De Grado, y en especial si está ligado a una publicación en una revista científica, es un proceso donde se integran muchos aspectos de la medicina y la investigación, que experimentados en primera persona suponen un proceso de aprendizaje muy importante para el futuro ejercicio de la profesión médica.

CONCLUSIONES

- 1.- La mera descripción estructurada de un caso clínico ayuda a comprender la importancia de personalizar muchos aspectos de la medicina.
- 2.- Una adecuada aproximación fisiopatológica y de seguimiento clínico es suficiente para conseguir personalizar muchos tratamientos.
- 3.- En la actualidad la genética permite conocer aspectos individuales que pueden ayudar a mejorar el diseño de las estrategias de tratamiento.
- 4.- La realización de un trabajo de investigación y su publicación forma parte integral del proceso básico de formación de los estudiantes universitarios.
- 5.- Es imprescindible que los alumnos conozcan la importancia de la publicación y del correcto proceso de Redacción Científica.

ANEXO I : Case Report: *Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with aspirin and angiotensin-converting enzyme inhibitors in a pediatric patient with XPO5 mutation. Journal of Medical Case Reports (JMCR).* Fase de revisores.

Journal of Medical Case Reports

Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with aspirin and enalapril in a pediatric patient with a mutated XPO5. A structured single case study.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JMCR-D-20-00281
Full Title:	Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with aspirin and enalapril in a pediatric patient with a mutated XPO5. A structured single case study.
Article Type:	Case report
Section/Category:	Nephrology
Funding Information:	
Abstract:	<p>Background: Identification of the underlying genetic basis of steroid-resistant nephrotic syndrome could impact in prognosis and treatment. Whereas mutations in the nuclear pore genes have been associated with podocyte dysfunction and nephrotic syndrome, there are no reported mutations in the porine regulator XPO5. Case presentation: We present a single-case study of a 17-year old woman with steroid-resistant nephrotic syndrome and a potentially pathogenic mutation in XPO5 gene, encoding the nuclear export protein exportin 5 a known porine regulator. Proteinuria was successfully controlled with low-dose aspirin (100 mg/day) and the angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril (0.1-0.2 mg/kg/day), for more than a decade. The significance of the clinical observation derives from the structured research based on our single case study. Every time (four times) the treatment was removed, nephrotic range proteinuria reappeared in few weeks, reassuring the clinical relevance of the stated treatment (enalapril plus acetylsalicylic acid) in controlling the patient's proteinuria within normal range. Conclusions: The case exposes the importance of defining gene mutations and their clinical correlation, and most importantly, alternative treatments that could be helpful in the control of proteinuria in steroid-resistant nephrotic syndrome. We discuss that mutated XPO5 could participate in the pathogenesis of the steroid-resistant nephrotic syndrome by deregulating porines, but also disturbing the transportation of precursor microRNAs from the nucleus to the cytoplasm. Treatment with aspirin and enalapril has not only effects regulating renal hemodynamics and intraglomerular pressure, but also modulating microRNAs expression.</p>
Corresponding Author:	Domingo Gonzalez-Lamuño Universidad de Cantabria Facultad de Medicina Santander, SPAIN
Corresponding Author E-Mail:	gonzaleld@unican.es
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidad de Cantabria Facultad de Medicina
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Juan Losada, MD
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Juan Losada, MD Verónica Rubio, MD Domingo Gonzalez-Lamuño
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response

<p>Is this study a clinical trial?</p> <hr/> <p>A clinical trial is defined by the World Health Organisation as 'any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes'.</p>	No
---	----

Title Page

Title: Steroid-resistant nephrotic syndrome successfully controlled with aspirin and enalapril in a pediatric patient with a mutated *XPO5*. A structured single case study.

KEYWORDS: “Steroid-resistant nephrotic syndrome”, “aspirin”, “enalapril”, “proteinuria”, “angiotensin-converting enzyme inhibitors”, “case report”

Authors: Juan Losada, MD (1), Verónica Rubio, MD (1), Domingo González-Lamuño, MD, PhD (1)(2).

(1) Division of Pediatrics, Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria. 39005 Santander, Spain

(2) Pediatric Nephrology, Department of Pediatrics. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. 39008 Santander, Spain

Corresponding author: Domingo González-Lamuño, MD, PhD. Division of Pediatrics, University of Cantabria. Avda. Los Castros s/n, 39005, Santander, Spain.

E-mail: gonzaleld@unican.es

ORCID: 0000-0002-7578-241X

Co-authors: Juan Losada, E-mail: jlc35@alumnos.unican.es

Verónica Rubio, E-mail: vrg906@alumnos.unican.es

ABSTRACT

Background: Identification of the underlying genetic basis of steroid-resistant nephrotic syndrome could impact in prognosis and treatment. Whereas mutations in the nuclear pore genes have been associated with podocyte dysfunction and nephrotic syndrome, there are no reported mutations in the porine regulator *XPO5*.

Case presentation: We present a single-case study of a 17-year old woman with steroid-resistant nephrotic syndrome and a potentially pathogenic mutation in *XPO5* gene, encoding the nuclear export protein exportin 5 a known porine regulator. Proteinuria was successfully controlled with low-dose aspirin (100 mg/day) and the angiotensin-converting enzyme inhibitor enalapril (0.1-0.2 mg/kg/day), for more than a decade. The significance of the clinical observation derives from the structured research based on our single case study. Every time (four times) the treatment was removed, nephrotic range proteinuria reappeared in few weeks, reassuring the clinical relevance of the stated treatment (enalapril *plus* acetylsalicylic acid) in controlling the patient's proteinuria within normal range.

Conclusions: The case exposes the importance of defining gene mutations and their clinical correlation, and most importantly, alternative treatments that could be helpful in the control of proteinuria in steroid-resistant nephrotic syndrome. We discuss that mutated *XPO5* could participate in the pathogenesis of the steroid-resistant nephrotic syndrome by deregulating porines, but also disturbing the transportation of precursor microRNAs from the nucleus to the cytoplasm. Treatment with aspirin and enalapril has not only effects regulating renal hemodynamics and intraglomerular pressure, but also modulating microRNAs expression.

INTRODUCTION

The diagnosis and management of steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) remains a challenge to pediatric nephrologists. Identification of an underlying genetic basis allows clinical observations in molecularly defined patient cohorts, which impacts prognosis and treatment (1). Indeed, several reports so far indicate that children with SRNS caused by mutations in some genes (i.e. *NPHS1* and *NPHS2*), do not respond to immunosuppressive treatment (2-5), whereas some with an underlying mutation in *WT1* appear to respond to treatment with cyclosporine (6). Over 30 monogenic genes have been identified in various subcellular compartments of the glomerular podocyte (7-11), playing a critical role in mitochondrial function, actin cytoskeleton dynamics, cell–matrix interactions, slit diaphragm, and podocyte integrity, which revealed these glomerular epithelial cells as the critical site of SRNS (12-14).

Whereas mutations in the nuclear pore genes *NUP9* and *NUP205* have been associated with podocyte dysfunction and nephrotic syndrome, there are no reported mutations in *XPO5* encoding the nuclear export protein exportin 5, a known porine regulator (15).

We present a single-case study of a 17-year old woman with SRNS and a potentially pathogenic mutation in *XPO5* gene successfully controlled with aspirin and enalapril for more than a decade. The case exposes the importance of defining gene mutations and their clinical correlation, and most importantly, the proposed alternative treatments that could be helpful in the control of proteinuria in SRNS. Moreover, initial testing for gene mutation in children with SRNS may obviate the need for biopsy.

METHODS: Case report and Single-case study design

1 This study is based on the follow-up of a 17-year-old woman with SRNS in the
2 Pediatric Nephrology Division of the Hospital Universitario Marqués de Valdecilla,
3
4 from 2003 to 2020.
5

6
7 The structure of this research consists on a single case study with an
8 ABABABABAB design, A being the phases where the patient had no treatment, and
9 B the stages where the patient was being treated. According to the design, the
10 treatment has been inserted and removed in four occasions, all of them coinciding
11 with the different stages in child development: child (age 4), pre-puberal (age 8),
12 adolescent (12) and adult (17) (Figure 1).
13
14
15
16
17
18
19
20

21 During the more than fourteen-years follow-up, quantification of albuminuria, blood
22 urea and serum creatinine measurements were performed regularly to monitor
23 kidney function and relapses of the nephrotic syndrome. Normal proteinuria was
24 considered for Alb < 30 mg/24 h and/or Alb/Cr < 30 mg/g.
25
26
27
28
29
30

31 The diagnosis of SRNS was made at the age of two years, as she did not respond
32 to the standard steroid therapy with oral prednisone 60 mg/m²/d for 4 weeks. Blood
33 urea and serum creatinine were normal. Other investigations included hepatitis B
34 and C serology, human immunodeficiency virus 1 and 2 serology, and complement
35 C3 and C4 levels and antinuclear antibody assays.
36
37
38
39
40
41
42

43 As the family refused renal biopsy and the patient was clinically stable and well
44 controlled, we considered the possibility of starting treatment with low-dose aspirin
45 (100 mgr/day) *plus* enalapril 2 mgr/day and prolonged alternate day course of
46 prednisone at 40 mg/m². Proteinuria disappeared (< 30 mg/24 h) in two weeks thus
47 we considered the possibility of a SRNR sensitive to enalapril *plus* aspirin then
48 removing corticosteroids from the treatment. Under this combined treatment, both
49 24 hours-urine albuminuria and albumina to creatinine ratio (Alb/Cr in mg/g) were
50 maintained always within normal ranges. Periodically the treatment regimen was
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

reevaluated with suppression and re-introduction of the drugs according to the albuminuria range. Low-dose aspirin dose has been consistent throughout the follow-up, whereas enalapril doses were increased every time the treatment was removed and reintroduced to the patient. The dose of enalapril used for this patient was approximately 0.1-0.2 mg/kg/day, 2 mg from onset to first removal at the age of four, 4 mg from age four to age 12, and 8 mg from age 12 to age 17.

Every time the combined treatment (enalapril *plus* aspirin) was removed, significant proteinuria closed to the nephrotic range reappeared in few weeks, reassuring the clinical relevance of the stated treatment in maintaining the patient's albuminuria within normal range ($\text{Alb} < 30 \text{ mg/24 h}$ and/or $\text{Alb/Cr} < 30 \text{ mg/g}$). Although just based on clinical criteria, we observed that the combined treatment with both drugs normalizes the albuminuria with no apparent side effects. With the results of the genetic study (see below), at the age of 16 we reassessed the benefits of treatment taking into account the impact that ACEIs could have on the patient's offspring because of the drug's teratogenic effect.

A treatment based only on aspirin was able to maintain proteinuria out of the nephrotic range with significant albuminuria of 100-150 mg/24h with no clinical manifestation. Incidentally in 2010, at the age of 7, the winter after the 2009 influenza A (H1N1) epidemic she was treated only with enalapril for over 6 months as prevention for Reye Syndrome. Levels were also under the nephrotic range, with albuminuria (50-70 mg/24 h), and no clinical repercussion.

As the identification of an underlying genetic basis parallel to the clinical observations could have an impact on genetic assessment and counseling, prognosis and treatment, and moreover, in order to explain the putative mechanisms for the excellent response of the patient to enalapril and aspirin, an extended mutation panel for SRNS was designed (table 1).

1 A mutation in heterozygosis was detected in the candidate's gene *XPO5* (MIM
2 607845), which consists of a transition from a T to a C (c.2976T> C) that, at the
3
4 protein level, presumably produces a synonym change at position 992 (p.D992D).
5
6 Its frequency in population databases is very low (MAF: 0.0005; 1000 genomes) and
7
8 presently there is no published evidence of its clinical implication.
9
10

11 **DISCUSSION**

12 This is the first clinical case description of a patient with nephrotic-range-proteinuria
13
14 resistant to steroid treatment, secondary to a mutation in the nuclear exportin-5
15
16 *XPO5*, successfully controlled with enalapril *plus* aspirin for more than a decade.
17
18 *XPO5* encodes nuclear export protein exportin-5, fundamental in nuclear exportation
19
20 along with nucleoporins. *XPO5* is expressed throughout renal development, and in
21
22 adult rat glomeruli, exportin 5 colocalized in podocytes with synaptopodin, a marker
23
24 of primary and secondary podocyte foot processes. The pattern has been described
25
26 for many other products of genes that when mutated cause SNRS. There are
27
28 several mutations that have already been described in the porines NUP9 and
29
30 NUP205, as possible etiologies of SNRS (16).
31
32
33
34
35
36
37

38 The change in heterozygosis detected in the candidate gene *XPO5* (MIM 607845),
39
40 consists of a transition from a T to a C (c.2976T> C), and although at the protein
41
42 level presumably produces a synonym change it could have pathogenic effects. The
43
44 *in silico* analysis with the prediction program used (Human Splicing Finder) does not
45
46 predict an impact on canonical splicing sites, nor does it indicate that this change of
47
48 place may create a new cryptic splicing site. However, any alterations of *XPO5*,
49
50 resulting from genetic mutation, epigenetic change, abnormal expression level or
51
52 post-translational modification, could affect microRNAs (miRNA) expression.
53
54 miRNAs are conserved small non-coding RNAs that play an important role in the
55
56 regulation of gene expression and participate in a variety of biological processes.
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 The transportation of precursor miRNAs (pre-miRNAs) from the nucleus to the
2 cytoplasm by XPO5 plays a critical role in miRNA biogenesis (17). miRNA function
3 is dispensable for the initial development of glomeruli but it has been demonstrated
4 to be critical to maintain the glomerular filtration barrier (18).
5
6

7
8
9 Our description not only widens the discussion of possible etiologies of SRNS within
10 a potential clinical involvement of *XPO5*, but also clinically demonstrates the
11 success of a specific treatment in the control of the proteinuria. Reducing the urinary
12 loss of plasma proteins may diminish the risk of nephrotic complications in SRNS
13 patients. Besides ACE inhibitors have been shown to lower protein excretion based
14 on its effects on intraglomerular pressure (19). ACEIs decrease bradykinin
15 breakdown, which also stimulates the synthesis of other vasodilatory prostaglandins
16 by the cyclooxygenase enzyme (20). In addition, there are different studies that
17 demonstrated that inhibition of the renin angiotensin system by ACEI further
18 influences microRNAs (miRNA) expression in blood (21).
19
20
21

22 Aspirin has been reported to modify the course of glomerulonephritis, probably by
23 altering renal hemodynamics, platelet aggregation, and mesangial proliferation. The
24 major mechanisms underlying its benefits are the inhibitory effects on platelet
25 activation and prostanoid biosynthesis induced by COX-1 and COX-2 inactivation
26 (22). miRNAs are newly proposed mediators of the effects of aspirin (23).
27
28
29

30 In our patient, albuminuria, when treated with low-dose aspirin, was consistently
31 higher than albuminuria when treated with enalapril alone or the combination of both
32 drugs. The concomitant use of ACEIs and low-dose aspirin is recommended for any
33 diabetic patient with microalbuminuria or macroalbuminuria because these drugs
34 result in renal and cardiovascular benefits (24,25).
35
36
37

38 Although we did not study the mechanisms described above (changes in renal
39 hemodynamics or in the glomerular filtration barrier), the design (ABABABABAB) of
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

our single case study has successfully proven the efficacy of the combined treatment with low-dose aspirin and enalapril in the control of proteinuria. Every time the treatment was retired nephrotic range proteinuria levels reappear. The treatment has been withdrawn and reintroduced in four occasions, seeing the correlation that existed between periods of proteinuria up to 5 grams per day (when the patient had no treatment), to protein levels below 30 mg/24h when the patient was under treatment with the combination of enalapril and aspirin. Albeit a putative pharmacological interaction between AAS and ACEIs is plausible, we have not observed loss of the antiproteinuric properties of the ACEIs in our patient.

Furthermore, secondary effects of these drugs have to be taken into consideration when dealing with patients. Although in our patient ACEIs have proven to be the best alternative to steroids, we specifically discussed the different treatment options with the family, that refused the renal biopsy from the beginning of the follow-up. When the patient was over twelve years old, was specifically informed about the topics related with her treatment. We first informed about the potential risks of aspirin for Reye's syndrome whereas child the seasonal influenza vaccine was administered from the beginning of the treatment with aspirin, and then informed about the potential teratogenic effect of ACEIs in pregnant women (26). Maternal medication with an ACE inhibitor in the first trimester is associated with increased risk of a major congenital malformation (27). Consequently, in a young woman with a future desire to have offspring, we considered the need to explore an alternative treatment during a potential future pregnancy. Even though the combination of enalapril *plus* aspirin was the most successful treatment, a treatment based only on low-dose aspirin has also proven to control proteinuria levels in a tolerable range throughout a possible pregnancy. It is important to note that strict monitoring of patient's basal proteinuria in absence of ACEIs is mandatory previously to a

pregnancy, in order to avoid confusers of a possible pre-eclampsia. As when treated just with low-dose aspirin her albuminuria is significant (aprox. 100 mgr/24h), we must inform and prevent a possible induction of premature labor in a patient with no preeclampsia but significant proteinuria due to her renal pathology.

Genetic studies were also performed in the patient's parents, finding out that the patient inherited the mutation in *XPO5* from her mother. Further studies showed normal renal function and no significant proteinuria in the mother, thus the detected mutation in *XPO5* is not the unique factor involved in the etiology of this patient's SRNS. Therefore, other factors, such as miRNAs, should be considered. However, our study supports the combined treatment of enalapril plus low-dose aspirin for the SRNS due to mutations in the nuclear pore complex (28).

CONCLUSIONS

Identification of an underlying genetic basis of SRNS could have a significant impact in prognosis and treatment, and initial testing for gene mutation in children with SRNS may obviate the need for biopsy. *XPO5* mutations should be considered in the pathogenesis of SRNS. We demonstrated a clinical respond to a combined treatment of ACEIs and aspirin. A consistent withdrawal and introduction of the treatment throughout different child ages shows the importance of these drugs in an effective control of proteinuria.

DECLARATIONS

Funding: NOT APPLICABLE

Conflicts of interest/Competing interests: Authors declare "NO CONFLICTS OF INTEREST."

Ethics approval: We obtained written and signed informed consent from patient and guardians for publishing the case report

Authors' contributions: Clinical responsible: DGL; Conceptualization: DGL and JL; Discussion: DGL, JL and VR; Revision: DGL, JL and VR.

REFERENCES

- (1) Bockenhauer D, Medlar AJ, Ashton E, Kleita R, Lench N. Genetic testing in renal disease. *Pediatr Nephrol*. 2012;27:873–883.
- (2) Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:722–732.
- (3) Santin S, Tazon-Vega B, Silva I, et al. Clinical value of NPHS2 analysis in early- and adult-onset steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6:344–354.
- (4) Hinkes B, Vlangos C, Heeringa S, et al. Specific podocin mutations correlate with age of onset in steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:365–371.
- (5) Buscher AK, Kranz B, Buscher R, et al. Immunosuppression and renal outcome in congenital and pediatric steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5:2075–2084.
- (6) Gellermann J, Stefanidis CJ, Mitsioni A, Querfeld U. Successful treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome associated with WT1 mutations. *Pediatr Nephrol*. 2010;25:1285–1289.
- (7) Vasudevan A, Siji A, Raghavendra A, Sridhar TS, Phadke KD. NPHS2 mutations in Indian children with sporadic early steroid resistant nephrotic syndrome. *Indian Pediatr*. 2012;49:231–233.
- (8) Gigante M, Caridi G, Montemurno E, et al. TRPC6 mutations in children with steroid-resistant nephrotic syndrome and atypical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6:1626–1634.

- (9) Mir S, Yavascan O, Berdeli A, Sozeri B. TRPC6 gene variants in Turkish children with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:205–209.
- (10) Li J, Ding J, Zhao D, et al. WT1 gene mutations in Chinese children with early onset nephrotic syndrome. *Pediatr Res*. 2010;68:155–158.
- (11) Benoit G, Machuca E, Nevo F, Gribouval O, Lepage D, Antignac C. Analysis of recessive CD2AP and ACTN4 mutations in steroid-resistant nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2010;25:445–451.
- (12) Nourbakhsh N, Mak RH. Steroid-resistant nephrotic syndrome: past and current perspectives. *Pediatr Health Med Therap*. 2017;8:29–3.
- (13) Machuca E, Benoit G, Antignac C. Genetics of nephrotic syndrome: connecting molecular genetics to podocyte physiology. *Human molecular genetics*. 2009;18:R185–194.
- (14) Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. *Kidney international*. 2007;71:1205–1214.
- (15) Cil O and Perwad F (2018) Monogenic Causes of Proteinuria in Children. *Front. Med*. 5:55.
- (16) Braun DA, Sadowski CE, Kohl S, Lovric S, Astrinidis SA, Pabst WL, et al. Mutations in nuclear pore genes NUP93, NUP205 and XPO5 cause steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* (2016) 48:457–65.
- (17) Wu K, He J, Pu W, Peng Y. The Role of Exportin-5 in MicroRNA Biogenesis and Cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2018;16(2):120–126.
- (18) Ho J, Ng KH, Rosen S, Dostal A, Gregory RI, Kreidberg JA. Podocyte-specific loss of functional MicroRNAs leads to rapid glomerular and tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(11):2069–75.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
- (19) Don BR, Kaysen GA, Hutchinson FN, Schambelan M. The effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and dietary protein restriction in the treatment of proteinuria. *Am J Kidney Dis* 1991; 17: 10-17.
- (20) American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 30:4–41, 2007.
- (21) Weber M, Baker MB, Patel RS, Quyyumi AA, Bao G, Searles CD. MicroRNA Expression Profile in CAD Patients and the Impact of ACEI/ARB. *Cardiol Res Pract.* 2011;2011:532915.
- (22) Patrono C, Pierucci A. Renal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in chronic glomerular disease. *Am J Med* 1986; 81 [Suppl. 2b]: 71-83.
- (23) Paseban M, Marjaneh RM, Banach M, Riahi MM, Bo S, Sahebkar A. Modulation of microRNAs by aspirin in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2019 Aug 14. pii: S1050-1738(19)30114-8.
- (24) Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T: Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 28:164–176, 2005.
- (25) Spaulding C, Charbonnier B, Chohen-Solal A, Juilliere Y, Kromer EP, Benhamda K, Cador R, Weber S: Acute hemodynamic interaction of aspirin and ticlopidine with enalapril: results of a double-blind, randomized comparative trial. *Circulation* 98:757–765, 1998.
- (26) Cooper WO, Hernandez-Diaz S, Arbogast PG, et al. Major congenital malformations after first-trimester exposure to ACE inhibitors. *N Engl J Med* 2006; 354:2443.
- (27) Fitton CA, Steiner MFC, Aucott L, Pell JP, Mackay DF, Fleming M, McLay JS. In-utero exposure to antihypertensive medication and neonatal and child health outcomes: a systematic review. *J Hypertens.* 2017;35(11):2123.

(28)Grossman E, Medalia O, Zwerger M. Functional architecture of the nuclear pore complex. Annual review of biophysics. 2012;41:557–584.

Table 1.- SRNS panel genes classified by their function and possible repercussion.

Extended mutation panel for SRNS including genes and their functions. Only genes and functions most relevant to the case study are included. Ref. National Center for Biotechnology Information. 2020. Gene. [ONLINE] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>. [Accessed 3/15/2020]

Gene function	Actin cytoskeleton dynamics	Cell–matrix interactions	Slit diaphragm and podocyte integrity	Mitochondrial function	Encoding of Porins and regulators	Other functions
Genes	<i>ACTN4</i> <i>ANLN</i> <i>ARHGAP24</i> <i>INF2</i> <i>MYO1E</i> <i>WDR73</i>	<i>ITGA3</i> <i>ITGB4</i> <i>LAMB2</i> <i>EMP2</i>	<i>NPHS1</i> <i>NPHS2</i> <i>PLCE1</i> <i>LMX1B</i> <i>WDR73</i> <i>CD2AP</i> <i>TRPC6</i>	<i>COQ2</i> <i>COQ6</i> <i>PDSS2</i>	<i>NUP205</i> <i>NUP93</i> <i>XPO5</i>	<i>ARHGDIA</i> <i>CFH</i> <i>CRB2</i> <i>CUBN</i> <i>PTPRO</i> <i>SCARB2</i> <i>SMARCAL1</i> <i>WT1</i>

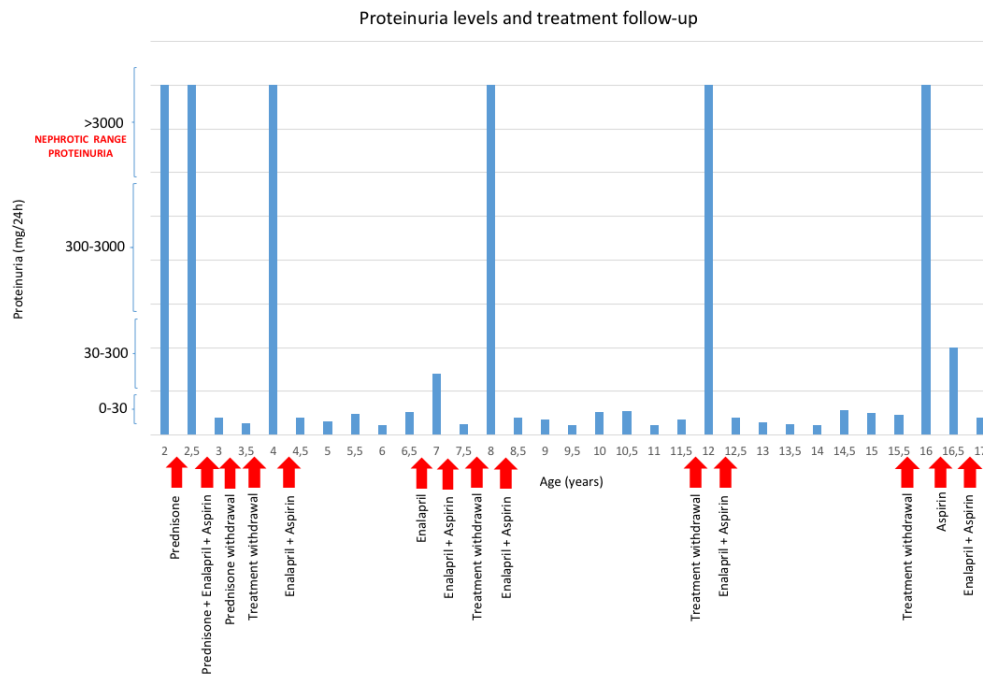


Figure 1.- Proteinuria range and treatment follow-up.

Proteinuria (vertical bars) during the follow-up and moments of implementation and withdrawal of treatment (arrows).

Table 1.- SRNS panel genes classified by their function and possible repercussion.

Extended mutation panel for SRNS including genes and their functions. Only genes and functions most relevant to the case study are included. Ref. National Center for Biotechnology Information. 2020. Gene. [ONLINE] Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>. [Accessed 3/15/2020]

Gene function	Actin cytoskeleton dynamics	Cell–matrix interactions	Slit diaphragm and podocyte integrity	Mitochondrial function	Encoding of Porins and regulators	Other functions
Genes	<i>ACTN4</i> <i>ANLN</i> <i>ARHGAP24</i> <i>INF2</i> <i>MYO1E</i> <i>WDR73</i>	<i>ITGA3</i> <i>ITGB4</i> <i>LAMB2</i> <i>EMP2</i>	<i>NPHS1</i> <i>NPHS2</i> <i>PLCE1</i> <i>LMX1B</i> <i>WDR73</i> <i>CD2AP</i> <i>TRPC6</i>	<i>COQ2</i> <i>COQ6</i> <i>PDSS2</i>	<i>NUP205</i> <i>NUP93</i> <i>XPO5</i>	<i>ARHGDI</i> <i>CFH</i> <i>CRB2</i> <i>CUBN</i> <i>PTPRO</i> <i>SCARB2</i> <i>SMARCAL1</i> <i>WT1</i>

ANEXO II: II: Journal of Medical Case Reports. Statistics.

Source details

[Feedback >](#) [Compare sources >](#)

Journal of Medical Case Reports

Open Access 

Scopus coverage years: from 2007 to Present

Publisher: Springer Nature

ISSN: 1752-1947

Subject area: [Medicine: General Medicine](#)

[View all documents >](#)

[Set document alert](#)

[Save to source list](#) [Journal Homepage](#)

CiteScore 2018
0.69 
[Add CiteScore to your site](#)

SJR 2018
0.262 

SNIP 2018
0.509 

[CiteScore](#) [CiteScore rank & trend](#) [CiteScore presets](#) [Scopus content coverage](#)

CiteScore **2018**  Calculated using data from 30 April, 2019

0.69 = $\frac{\text{Citation Count 2018}}{\text{Documents 2015 - 2017*}}$


$\frac{714 \text{ Citations} >}{1.036 \text{ Documents} >}$

*CiteScore includes all available document types [View CiteScore methodology >](#) [CiteScore FAQ >](#)

CiteScore rank

Category	Rank	Percentile
Medicine		
General Medicine	#210/549	<div><div></div></div> 61st

[View CiteScore trends >](#)

CiteScoreTracker 2019  Last updated on 09 April, 2020
Updated monthly

0.73 = $\frac{\text{Citation Count 2019}}{\text{Documents 2016 - 2018}}$

$\frac{829 \text{ Citations to date} >}{1.132 \text{ Documents to date} >}$

 Metrics displaying this icon are compiled according to [Snowball Metrics](#), a collaboration between industry and academia.

also developed by scimago:

SCIMAGO INSTITUTIONS RANKINGS

SJR

Scimago Journal & Country Rank

Enter Journal Title, ISSN or Publisher Name



Home

Journal Rankings

Country Rankings

Viz Tools

Help

About Us

Journal of Medical Case Reports 8

27

H Index

Country: United Kingdom - [SJR Ranking of United Kingdom](#)

Subject Area and Category: [Medicine](#)
[Medicine \(miscellaneous\)](#)

Publisher: [BioMed Central](#)

Publication type: [Journals](#)

ISSN: 17521947

Coverage: 2007-ongoing

Scope: JMCRR is an open access, peer-reviewed online journal that will consider any original case report that expands the field of general medical knowledge. Reports should show one of the following: 1. Unreported or unusual side effects or adverse interactions involving medications 2. Unexpected or unusual presentations of a disease 3. New associations or variations in disease processes 4. Presentations, diagnoses and/or management of new and emerging diseases 5. An unexpected association between diseases or symptoms 6. An unexpected event in the course of observing or treating a patient 7. Findings that shed new light on the possible pathogenesis of a disease or an adverse effect

[Homepage](#)

[Join the conversation about this journal](#)

Ads by Google

[Report this ad](#) [Why this ad? >>](#)

Quartiles



Total Cites Self Cites



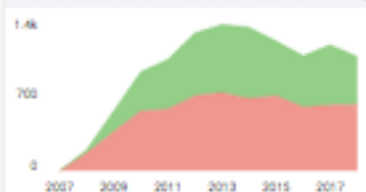
Citable documents Non-citable documents



External Cites per Doc Cites per Doc



Cited documents Uncited documents



SJR



% International Collaboration



Citations per document



Journal of Medical Case Reports

Medicine (miscellaneous)

Q3

SJR 2018 0.26

powered by scimago.com

Show this widget in your own website

Just copy the code below and paste within your html code:

```
<a href="https://i
```

